

**EINFLUSS VON CHOLINERGER STIMULI UND
HISTAMIN - H₂ - AGONISTEN AUF DIE IN VITRO
HISTAMIN - RELEASABILITY PERIPHERER
LEUKOZYTEN VON ATOPIKERN UND
KONTROLLPERSONEN**

HELMUT IBEL

1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554612_0009

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Ludwig-Maximilians-Universität München

(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. O. Braun-Falco)

Einfluß von cholinergen Stimuli und Histamin- H_2 -Agonisten auf die in vitro Histamin-Releasability peripherer Leukozyten von Atopikern und Kontrollpersonen

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in
der gesamten Medizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Helmut Ibel
aus Bad Wörishofen

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatte: Prof. Dr. Dr. J. Ring

Mitberichterstatte: Prof. Dr. Dr. h.c.O. Braun-Falco

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 05. 1986

Meinen Eltern
gewidmet

Erklärung der im Text verwendeten Abkürzungen

A.b.	=	Asthma bronchiale
a.E.	=	atopisches Ekzem
Anti-IgE	=	Antiserum gegen Immunglobulin E
AS	=	Atopie Stigmata
c-AMP	=	zyklisches Adenosin-5'-Monophosphat
c-GMP	=	zyklisches Guanosin Monophosphat
Carbachol	=	Carbanylcholin
e.a.	=	et alteri
FA	=	Familienanamnese
Hist.Rel.	=	Histamin-Release (Histaminfreisetzung)
IgE	=	Immunglobulin E
PRIST	=	Paper-Radio-Immuno-Sorbent-Test
R.a.	=	Rhinitis allergica
RAST	=	Radio-Allergo-Immuno-Sorbent-Test

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
A <u>Einleitung</u>	3
B <u>Material und Methoden</u>	7
1. Patienten und Probanden	7
2. Isolierung der Leukozyten	12
3. Stimulation der basophilen Granulozyten	13
4. Histaminmessung	16
5. Reagentien	17
6. Statistische Auswertung	22
C <u>Ergebnisse</u>	
1. Einfluß cholinergger Stimulierung auf die Histaminfreisetzung	24
1.1. Histaminfreisetzung durch Carbachol	24
1.2. Einfluß von Carbachol auf die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung durch Anti-IgE	25
1.2.1. Versuche ohne Vorinkubation	25
1.2.2. Versuche mit Vorinkubation	30
1.3. Aufhebung der durch Carbachol erreichten Mehrfreisetzung durch Atropin	36
1.4. Einfluß cholinergger Stimulierung auf die Histaminfreisetzung durch spezifisches Antigen	41
1.5. Einfluß cholinergger Stimulierung auf die nicht-immunologisch induzierte Histaminfreisetzung	44
1.6. Zusammenfassung der Versuche zum Einfluß cholinergger Stimuli auf die Histaminfreisetzung	48
2. Einfluß von Histamin und H ₂ -Agonisten auf die Histaminfreisetzung basophiler Leukozyten	49
2.1. Versuche mit Histamin	49
2.2. Versuche mit dem spezifischen H ₂ -Agonisten Impromidine	52
2.3. Versuche zur Blockierung der H ₂ -Wirkung an den Histaminrezeptoren durch Cimetidin	54

2.4.	Zusammenfassung der Versuche zur Hemmung der immunologisch induzierten Histaminfreisetzung durch Histamin und H_2 -Agonisten	56
D	<u>Diskussion</u>	
1.	Cholinerge Überreaktivität	59
2.	Die Regulation der Funktionen immunologisch kompetenter Zellen durch Neurotransmitter und Gewebshormone	60
2.1.	Die Rolle des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats (c-AMP)	60
2.2.	Cholinerge Stimulierung und zyklisches Guanosin-Monophosphat (c-GMP)	63
2.3.	Alphaadrenerge Stimulierung	68
3.	Störungen des zyklischen Nukleotid-Kontrollsystems bei Atopikern	69
3.1.	Betaadrenerge Blockade	69
3.2.	Vermehrte cholinerge und alphaadrenerge Stimulierbarkeit	72
3.3.	Veränderte Reaktion auf Gewebshormone	74
4.	Vasoaktive Mediatoren, zyklische Nukleotide und der Mechanismus der Histaminfreisetzung	77
5.	Vermehrte "Releasability": Ein möglicher pathogenetischer Faktor bei atopischen Erkrankungen	84
D	<u>Zusammenfassung</u>	86
F	<u>Literatur</u>	88

A Einleitung

Der Begriff "Atopie" wurde 1923 von Coca und Cooke zur Beschreibung familiär gehäufte Überempfindlichkeitsreaktionen eingeführt (25). Obwohl seitdem eine Fülle von klinischen, biochemischen, immunologischen und genetischen Fakten und Beobachtungen bekannt geworden sind, läßt sich über die Ätiologie dieses "Atopie-Syndroms", das sich klinisch im gehäuften Auftreten von Asthma bronchiale, Rhinitis allergica und atopischem Ekzem (allein oder in Kombination) bei genetisch dazu veranlagten Personen äußert, noch immer nichts Abschließendes aussagen.

Eine zentrale Rolle in den meisten ätiopathogenetischen Erklärungsversuchen (7, 29, 44, 90, 111, 119, 133) nehmen IgE-Antikörper und die durch sie getriggerten Mechanismen der Freisetzung von vasoaktiven Mediatoren aus Mastzellen und basophilen Leukozyten ein. Einen besonderen Rang beansprucht dabei das Histamin, der Mediator, über den auch am meisten bekannt ist. Histamin kann in der Entwicklung der atopischen Krankheiten und Symptome verschiedene Funktionen einnehmen. Einmal ist es bei den allergischen Reaktionen vom Soforttyp (Typ I nach Coombs und Gell (126)) für die meisten klinischen Erscheinungen wie Ödembildung durch Vasodilatation der Kapillaren, Erhöhung der Atemwegs-Resistance durch Konstriktion der glatten Muskulatur der Bronchiolen usw. verantwortlich (5, 6, 23). Dieser inflammatorischen Wirkung des Histamins, die an den jeweiligen Zellen über H_1 -Rezeptoren vermittelt wird, steht an immunologisch kompetenten Zellen eine über H_2 -Rezeptoren vermittelte antiinflammatorische Funktion des Histamins gegenüber (23).

Bei Atopikern ist die Bereitschaft, Histamin freizusetzen, im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen gesteigert.

Es finden sich jedoch auch Hinweise für eine Störung im Sinne einer veränderten Ansprechbarkeit weißer Blutzellen von Atopikern auf den Mediatorstoff Histamin (148), die über Rückwirkungen auf die Bildung von Immunglobulinen selbst wieder zur erhöhten Histaminfreisetzung beitragen. Daneben ist die gestörte Ansprechbarkeit immunkompetenter Zellen ein Ansatzpunkt für z.B. bei Patienten mit atopischem Ekzem zu beobachtende erhöhte Infektanfälligkeit, die sowohl bakterielle, wie mykotische und virale Infektionen betrifft (1, 3, 48, 49, 98, 125, 148). Ebenso wurde bei Atopikern eine erschwerte Sensibilisierbarkeit im Patch Test beschrieben (46).

Der bekannteste Freisetzungsmechanismus für Histamin ist die IgE - Allergen bzw. IgE - Anti-IgE vermittelte Freisetzungsreaktion, bei der durch Überbrückung von zellmembranständigen IgE-Molekülen durch Allergen- oder Anti-IgE-Moleküle Veränderungen an der Zellmembran induziert werden, die die Histaminfreisetzung einleiten (59, 60, 61, 65, 66). Seitdem bekannt ist, daß der Histamin-Release nicht direkt abhängig von der Zahl der an einer Zelle befindlichen IgE-Moleküle ist (27, 28, 62, 63) und daß auch die Konzentration des zugefügten Allergens nicht ausreichend ist, um Unterschiede in der Reagibilität verschiedener Probandenkollektive zu erklären, sind die bereits seit längerem bekannten anderen z.T. immunologischen wie nicht-immunologischen Mechanismen der Histaminfreisetzung mehr ins Interesse der Forschung gerückt. Dazu gehört die Histaminfreisetzung durch aktiviertes Komplement, das möglicherweise von bestimmten bei Atopikern typischerweise vorkommenden Glykoproteinen (Atopenen) aktiviert wird (7), durch bestimmte Ionophore, basische Peptide oder Röntgen-Kontrastmittel. Bei vielen dieser Histamin-Liberatoren zeigen basophile Leukozyten und Mastzellen von Atopikern die Eigenschaft, leichter und unter Umständen auch quantitativ mehr der in den Zellgranula gespeicherten Mediatoren freizusetzen. Diese Eigenschaft wird mit dem Begriff erhöhte "Releasability" umschrieben (124).

Einen Ansatzpunkt zur Erklärung bietet das ubiquitär in allen Zellsystemen vorkommende Regulationssystem der zyklischen Nucleotide. Von Szentivanyi (138) wurde die Theorie der "Beta-Blockade" zur Erklärung der Pathogenese des Asthma bronchiale aufgestellt: Asthmatiker reagieren danach mit einer geringeren Ansprechbarkeit auf betaadrenerge Hormone, die sich über einen geringeren Anstieg des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats und als Resultat davon in einer Abschwächung der physiologischen Hemmung zahlreicher Zellfunktionen manifestiert. Diese Theorie konnte inzwischen in zahlreichen Versuchsreihen für verschiedene Zellarten von Asthmatikern und Patienten mit atopischem Ekzem bestätigt werden.

Auch die biologische Funktion der Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten und Mastzellen untersteht der Regulation durch das System der zyklischen Nucleotide wenigstens teilweise. Bei Atopikern konnten Hinweise für eine abgeschwächte Hemmung im Vergleich zu Normalpersonen nach Exposition mit betaadrenergen Substanzen beobachtet werden (83, 84). Neben betaadrenergen Agonisten erhöht auch Histamin selbst den intrazellulären Spiegel des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats (c-AMP) und hemmt physiologischerweise die Histaminfreisetzung. Gleiches gilt für das Prostaglandin E (134), während andere Prostaglandine wiederum fördernd auf die Histaminfreisetzung einwirken (53). Über Unterschiede von Atopikern im Vergleich zu Normalpersonen in der Reaktion auf diese vasoaktiven Mediatoren gibt es unterschiedliche Angaben. Dem hemmenden physiologischen Einfluß des c-AMP auf die Histaminfreisetzung steht eine Erhöhung durch das zyklische Guanosin-Monophosphat (c-GMP) gegenüber (75). Eine wichtige Substanz, die die Eigenschaft hat, c-GMP in verschiedenen Zellsystemen zu erhöhen, und von der daher eine Steigerung der Histaminfreisetzung zu erwarten ist, ist der parasymphatische Überträgerstoff Azetylcholin.

Messungen bei Atopikern zeigten einen Anstieg des intrazellulären c-GMP nach der Stimulation mit Methylcholin, ebenso konnte bei atopischen Patienten eine vermehrte Histaminfreisetzung in vitro nach Inkubation mit Azetylcholin beobachtet werden (118, 121).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, Wirkungen von cholinergen Substanzen auf die immunologisch und nicht-immunologisch durch bekannte Histaminliberatoren ausgelöste Histaminfreisetzung aus menschlichen basophilen Leukozyten zu überprüfen. Auf Unterschiede im Freisetzungsmuster zwischen Atopikern und Normalpersonen wurde besonders geachtet, um mögliche Störungen in der Regulation der Histaminfreisetzung in vitro aufzudecken und damit einen Teil zur Erklärung der vermehrten "Releasability" der Atopiker beizutragen.

In einem anderen Modell der über das c-AMP/c-GMP-System laufenden Regulationsmechanismen sollte die Wirkung von Histamin selbst und Histamin-Agonisten auf die Histaminfreisetzung bei Atopikern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe untersucht werden.

B Material und Methoden

1. Patienten und Probanden

Die Versuche wurden mit Zellen aus dem venösen Blut von 41 Atopikern und 36 Normalpersonen durchgeführt. Die Unterscheidung zwischen Atopikern und Normalpersonen wurde nach rein klinischen Gesichtspunkten getroffen, d.h. als Atopiker wurden Personen bezeichnet, die unter Asthma bronchiale, Rhinitis allergica oder atopischem Ekzem litten. Viele der insgesamt 41 atopischen Versuchspersonen wiesen starke Reaktionen im Pricktest auf bestimmte Antigene auf, einige hatten im RAST und PRIST erhöhte spezifische IgE Titer bzw. einen erhöhten Gesamt-IgE-Spiegel. Von den Atopikern waren insgesamt 22 weiblichen und 19 männlichen Geschlechts, die jüngste Patientin war 12 Jahre, der älteste Patient 61 Jahre alt. Das Durchschnittsalter betrug 35,8 Jahre.

Die Kontrollpersonen setzten sich aus Freiwilligen zusammen, die frei von klinischen Zeichen der Atopie waren und bei denen die Anamnese das Vorhandensein einer atopischen Diathese als unwahrscheinlich erscheinen ließ (Fehlen von Asthma bronchiale, Rhinitis allergica und atopischem Ekzem).

In der folgenden Tabelle 1 sind die wichtigsten klinischen Daten der Atopiker kurz zusammengefaßt.

Tab. 1: Zusammenfassung wichtiger klinischer Daten in der Gruppe der Atopiker. (Erklärung

sh. S. 10)

Pat.	Ini- tialen	Alter	Geschl.	Diagnose	FA	Hauttest	RAST	IgE	AS
1.	W.M.	29	w	A.b.					
2.	K.L.	33	w	R.a.		Pollen ++			
3.	J.R.	37	w	R.a.	+				+
4.	H.R.	27	w	a.E.				196	
5.	A.E.	30	w	a.E.					
6.	R.E.	35	w	R.a., Peni- cillin- allergie					
7.	R.C.	21	w	a.E.			Hausstaub 3, Gräser 3, Mil- be 2, Katze 4		
8.	G.S.	26	w	A.b.		Milbe +++, Tierhaare +++	Katze 2, Hunde 2, Pferd 4		
9.	R.D.	25	w	R.a.		Pollen ++			
10.	R.S.	22	w	R.a.	+	Pollen +			
11.	T.W.	35	m	a.E.	+	Tierhaare +++, Milbe (+)	Katze 4, Hund 4		

Pat. Nr.	Ini- tialen	Alter	Geschl.	Diagnose	FA	Hauttest	RAST	IgE	AS
12.	P.I.	27	m	a.É.		Pollen ++, Milbe ++		270	
13.	B.S.	18	w	R.a.		Pollen ++, Milbe ++			
14.	H.C.	19	w	a.É.	+	Milbe +, Katze ++			+
15.	K.H.	18	m	a.É., R.a.				700	
16.	S.É.	33	m	R.a.		Milbe +, Grä- ser +, Katze + Hausstaub +	Beifuss 2, Spitzwegerich 2		
17.	M.B.	12	w	a.É., Nik- kelallergie	+				+
18.	C.J.	25	w	a.É.				310	
19.	S.I.	43	w	A.b.	+				+
20.	R.M.	45	w	R.a., Arzt- neimittel- allergie					
21.	W.G.	41	w	a.É.	+				
22.	W.I.	28	w	a.É.				600	

Pat. Nr.	Initialen	Alter	Geschl.	Diagnose	FA	Hauttest	RASI	IgE	AS
23.	A.A.	61	m	A.b.		Milbe +, Tierhaare +	Hühnereweiß 2, Milcheiweiß 2	274	
24.	F.S.	37	m	a.E.	+	Pollen ++			
25.	B.C.	23	w	a.E.		Milbe ++			
26.	B.H.	47	w	A.b., R.a.		Milbe +++, Hausstaub ++, Tierhaare ++			
27.	F.H.	17	m	R.a., A.b.			Beifuß 3, Birke 3, Gräser 3		
28.	S.F.	23	w	a.E., Penicillinallergie					
29.	A.G.	21	w	a.E.					
30.	K.H.	29	m	a.E.					+
31.	R.J.	47	m	A.b., R.a.		Gräser ++, Milbe ++			
32.	B.A.	18	m	a.E.	+				
33.	K.A.	39	m	a.E.					+

Pat. Nr.	Initialen	Alter	Geschl.	Diagnose	FA	Hauttest	RASI	IgE	AS
34.	F.N.	42	m	A.b.		Milbe ++, Pollen ++			
35.	R.J.	38	m	A.b.	+				
36.	C.P.	23	m	R.a.		Pollen +++			
37.	K.M.	45	m	R.a., A.b.		Hausstaub +, Milbe +			
38.	B.K.	31	m	a.E.		Milbe ++			
39.	S.P.	37	m	A.b., Arz- mittel- allergie		Milbe ++, Hausstaub ++, Tierhaare ++			
40.	G.H.	43	- m	R.a., A.b.	+				
41.	D.H.	40	m	R.a.		Pollen +++			

Erklärung der in Tab. 1 verwendeten Abkürzungen:

A.b.: Asthma bronchiale

R.a.: Rhinitis allergica

a.E.: atopisches Ekzem

AS.: Atopie-Stigmata: Einer oder mehrere der folgenden klinischen Befunde: Ichthyosis-Hände oder Füße, extrem trockene Haut, pelzkappenförmiger Haaran-satz, Hertoghesches Zeichen, Atopie-falte, weißer Dermographis-mus (nach 123).

+ - +++: Stärke der Reaktion im Pricktest

RAST 1-4: Bezeichnung der RAST-Klasse

FA: positive Familienanamnese.

2. Isolierung der Leukozyten

Aus einer Armvene wurden in eine heparinisierte Spritze 20 ml Vollblut entnommen. Anschließend wurden 5 ml 6% Dextran (Macrodex) aufgezogen. Die Spritze wurde daraufhin, nach mehrmaligem milden Schwenken, für 60 Minuten mit der Spitze nach oben an der Wand befestigt. Während dieser Zeit konnten Erythrozyten nach unten sedimentieren. In dem aus Plasma und Dextran bestehenden Überstand waren die Leukozyten, sowie vereinzelt noch Erythrozyten und Thrombozyten aufgeschwemmt. Mit einem "Butterfly" - Infusionssystem wurde der Überstand in Kunststoffröhrchen übertragen, ohne die Spritze zu kippen. Anschließend wurde der Überstand 10 Minuten bei 4 Grad Celsius zentrifugiert (900 Umdrehungen/Minute). Die Leukozyten setzten sich dabei am Boden des Röhrchens ab, der Überstand wurde verworfen. Anschließend wurden die Zellen ~~weder~~ vorsichtig mit einer Pasteur-Pipette in TRIS-Puffer aufgeschwemmt und der Zentrifugiervorgang wiederholt (2x).

Die so gewonnenen Leukozyten wurden dann in der Neubauer-Zählkammer ausgezählt und auf eine Konzentration von ca. 2 Millionen Zellen/ml Suspensionslösung verdünnt.

Die so gewonnene Leukozytensuspension enthielt sowohl Granulozyten wie Lymphozyten und andere Zellen der weißen Reihe. Da jedoch nur basophile Granulozyten Histamin in nennenswerter Menge enthalten, ist eine weitere Auftrennung der Leukozyten nicht erforderlich. Vorversuche dazu wurden von von der Helm vorgelegt (155a).

Unterschiede in der Menge des tatsächlich freigesetzten Histamins sind durch den individuell verschiedenen Anteil der Basophilen an der Gesamtmenge der Granulozyten erklärbar. Da es jedoch bei den durchgeführten Versuchen um die relative Mehr- bzw. Minderfreisetzung von Histamin bei der einzelnen Versuchsperson ging, ist die Methode dennoch aussagekräftig.

3. Stimulation der basophilen Granulozyten

Nach der Isolierung der Leukozyten wurde die gewonnene Suspension in Portionen von 0,5 ml auf Kunststoffröhrchen verteilt. Durch mehrmaliges vorsichtiges Wenden wurde eine gleichmäßige Zellverteilung in der Suspension gewährleistet.

Anschließend wurden die Zellen mit der zu untersuchenden Testsubstanz versetzt (0,05 ml). Als Testsubstanzen dienten: Carbachol, Atropin, Histamin, Impromidine, Cimetidin.

Bei den Versuchen ohne Vorinkubation wurden die Zellen unmittelbar darauf mit bekannten, immunologisch- bzw. nicht-immunologisch wirksamen Histaminliberatoren (0,05 ml) über 45 Minuten bei 37 Grad Celsius inkubiert und die Histaminfreisetzung gemessen. Als Histaminliberatoren wurden eingesetzt: Anti-IgE, spezifische Antigene, Calcium ⁺⁺ Ionophore A 23/87. Bei den Versuchen mit Vorinkubation wurden die Zellen vor der Zugabe der Histaminliberatoren 10 Minuten allein mit der Testsubstanz bei 37 Grad Celsius vorinkubiert.

Als Vergleichswerte wurden jeweils die Gesamthistaminmenge (=100 %) durch Inkubation der Zellen mit 70%iger Perchlorsäure, sowie die spontane Histaminfreisetzung (= Leerwert) durch Inkubation mit TRIS-Puffer (jeweils 0,05 ml) ermittelt. Aus diesen Werten wurde nach dem Dreisatz die prozentuale Histaminfreisetzung errechnet.

Nach Beendigung der Freisetzungsreaktion wurden die Röhrchen aus dem 37 Grad Celsius warmen Wasserbad entfernt und der Histaminfreisetzungsvorgang durch Abkühlung auf 4 Grad Celsius gestoppt. Anschließend wurden die Zellen durch fünfminütige Zentrifugation bei 1200 Umdrehungen/Minute und 4 Grad Celsius abzentrifugiert, der das Histamin enthaltende Überstand abgekippt. Eventuell noch im Überstand vorhandenes Protein wurde durch Zugabe von 0,5 ml 2%iger Perchlorsäure ausgefällt und bei 3600 Umdrehungen/Minute abzentrifugiert (5 Minuten). Der Überstand wurde wieder abgekippt, auf das Meßvolumen von 1,1 ml gebracht und bis zur Histaminmessung bei -18 Grad Celsius eingefroren.

Um die Methode zu verdeutlichen, ist nachfolgend als Beispiel das Pipettierschema für die Versuche mit Carbachol dargestellt:

Tab. 2: Pipettierschema für die Versuche mit Carbachol

Bez.	Röhrchen Nr.	Testsubst. (Carbachol)	Histamin Liberator (Anti-IgE)	Zellsuspension
Leerwert	1	50 µl TRIS	50 µl TRIS	500 µl
"	2	"	"	"
Gesamt	3	50 µl TRIS	50 µl Per- chlorsäure	"
"	4	"	"	"
Vergl. Wert	5	50 µl TRIS	Anti-IgE 1:1000	"
"	6	"	"	"
Carbachol 1:100000 M	7	Carbachol 1:100000M	50 µl TRIS	"
"	8	"	"	"
Carbachol 1:100000M	9	Carbachol 1:100000M	Anti-IgE 1:1000	"
"	10	50 µl "	50 µl "	"
Carbachol 1:10000M	11	Carbachol 1:10000M	50 µl TRIS	"
"	12	50 µl "	"	"
Carbachol 1:1000M	13	Carbachol 1:10000M	Anti-IgE 1:1000	"
"	14	50 µl "	50 µl "	"

Bez.	Röhrchen Nr.	Testsubst. (Carbachol)	Histamin Liberator (Anti-IgE)	Zellsuspen- sion
Carbachol 1:1000M	15	Carbachol 1:1000M 50 µl	50 µl TRIS	500 µl
- "- -	16	- "- -	- "- -	- "- -
Carbachol 1:1000M	17	Carbachol 1:1000M 50 µl	Anti-IgE 1.1000 50 µl	- "- -
- "- -	18	- "- -	- "- -	- "- -

Dieses Pipettierschema wurde sinngemäß auch bei den anderen Versuchen eingehalten, wobei die Testsubstanzen und Liberatoren variiert wurden. Es wurden für jeden Wert zwei Teströhrchen bestimmt.

4. Histaminmessung

Die heute geläufigste Methode, Histamin zu messen, ist die 1959 von Shore u.a. (129) angegebene fluorometrische Methode, bei der das Histamin in einen fluoreszierenden Histamin-o-Phthalaldehyd-Komplex eingebunden wird.

Zuvor muß eine Reinigung durch Butanolextraktion erfolgen. Anschließend an die Koppelung an o-Phthalaldehyd erfolgt eine Aktivierung des Komplexes durch UV-Licht (350 nm) und darauf schließlich die Messung bei 450 nm im Spektrofluorometer.

Auf diesem Prinzip basiert auch die bei den Versuchen angewandte automatische Messung des Histamins im "Auto-Analyzer" (132) der Firma Technicon (Bad Vilbel).

Nach etwa zehn Proben werden dabei zwei Proben mit einer standardisierten Histaminmenge (10 ng) gemessen. Die bei dieser Menge im Schreiber sichtbaren Kurven werden zu den durch die Teströhrchen verursachten Schreiberausschlägen in Beziehung gesetzt und daraus die jeweiligen Mengen an freigesetztem Histamin bestimmt.

5. Reagentien

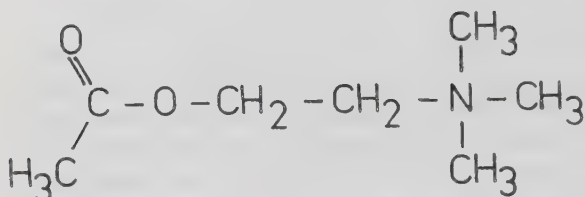
- a) TCM-Puffer: (TRIS, Calcium⁺⁺, Magnesium⁺⁺)
TRIS (25 mM), NaCl (120 mM), KCL (4 mM),
MgCl₂ (1 mM), CaCl₂ (0,6 mM)

Der Puffer wurde auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt.

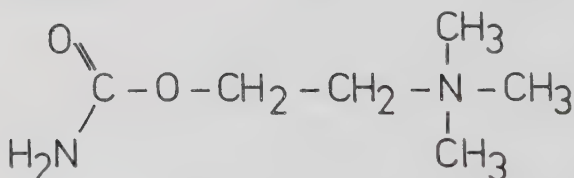
- b) Carbamoylcholin = Carbachol (Doryl^R).
Fa. Merck (0,00025 g in 1 ml Injektionslösung).
Im Unterschied zu Azetylcholin kann die eng verwandte Substanz Carbamoylcholin durch Cholinesterase nicht oder nur sehr langsam abgebaut werden. Die physiologischen Wirkungen beider Substanzen sind identisch. Beide sind stark polar, es stehen sich jeweils ein positiv geladenes Stickstoffatom und zwei elektronegative Sauerstoffatome gegenüber. Die für die Bindung an den Rezeptor und die Reaktion mit der Cholinesterase verantwortlichen Stellen des Moleküls sind bei beiden Substanzen dieselben.

Strukturformel:

Azetylcholin



Carbachol



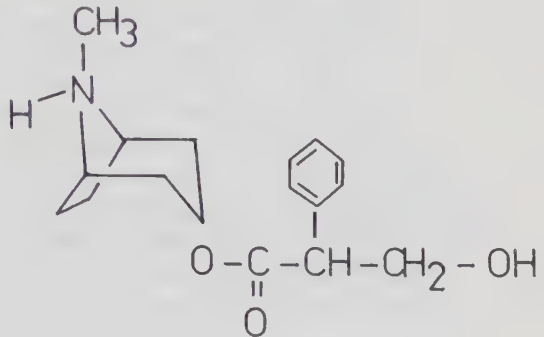
- c) Atropin: Atropinum sulfuricum Amphiolen^R: 0,5 mg in
1 ml Lösung (Cascan)

Azetylcholin wirkt im menschlichen Organismus über zwei verschiedene Rezeptoren. Die Wirkung auf die postganglionären parasympathischen Rezeptoren läßt sich durch das aus dem Fliegenpilz gewinnbare Alkaloid Muskarin ebenfalls erzielen, während die Azetylcholin-Wirkung auf motorische Endplatten und Ganglien von Muskarin nicht ersetzt werden kann. Diese Wirkung wird durch Nikotin erreicht, das wiederum keinen Einfluß auf die postganglionären, parasympathischen Rezeptoren hat. Davon ausgehend wurden verschiedene Hemmstoffe für die verschiedenen Effekte des Azetylcholins entwickelt. Atropin hemmt die muskarinartige Wirkung des Azetylcholins durch kompetitive Hemmung.

Atropin ist ein Alkaloid, das aus verschiedenen Pflanzen gewonnen werden kann. Chemisch ist es ein Ester des Tropins und der Tropasäure. Es hat eine hohe Affinität zum Azetylcholinrezeptor ohne "intrinsic activity".

Strukturformel:

Atropin

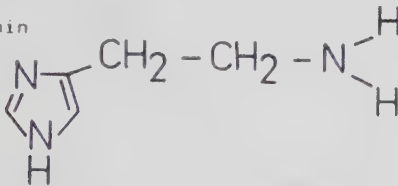


d) Histamin:

Histamin ist ein in der Natur weit verbreitetes biogenes Amin, das durch Decarboxylierung der Aminosäure Histidin in den Zellen selbst entsteht.

Strukturformel:

Histamin

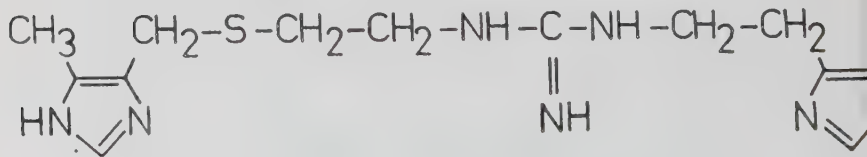


- e) Impromidine: Fa. Smith/Kline & Dauelsberg 92676
(1 mg/ml Lösung)

Impromidine ist ein im Handel nicht erhältlicher hoch potenter spezifischer H_2 -Agonist (33). Histamin wirkt ähnlich wie Azetylcholin über zwei verschiedene Rezeptoren (5,6). Impromidine ist in der Wirkung auf den H_2 -Rezeptor potenter als Histamin, während es auf den H_1 -Rezeptor keine Wirkung ausübt. So ist eine bestimmte Menge von Impromidine z.B. bei der Stimulation von Magensäure der Ratte, des Hundes und der Katze 16 - 27-fach so wirksam wie eine gleiche Menge von Histamin. Chemisch ist Impromidine eine Base mit drei basischen Zentren und zwei Imidazolringen. Die Substanz ist lichtempfindlich. Impromidine wurde uns freundlicher Weise von der Fa. Smith/Kline & Dauelsberg, Göttingen (Herr Schäfer, Prof. Clowdus) überlassen.

Strukturformel:

Impromidine

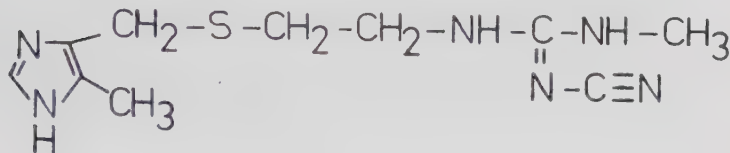


- f) Cimetidin: Tagamet^R: 229 mg Cimetidin-Hydrochlorid
in 2 ml Lösung (Sk&F)

Cimetidin ist ein spezifischer H_2 -Antagonist mit hoher Affinität zum Rezeptor und chemischer Verwandtschaft zum Histamin. Es wirkt als kompetitiver Hemmstoff durch Konkurrenz um den Rezeptor. Die Bindung zum Rezeptor ist reversibel. Verwendet wurden Tagamet-Ampullen.

Strukturformel:

Cimetidin



- g) Antiserum gegen menschliches Immunglobulin E (E-Kette) von Kaninchen. Antikörpertiter 492279 IU/ml. Verwendete Konzentration 1:1000 = ca. 500 IU/ml.
- h) Allergen-Lösungen (Bencard-Allergie-Dienst, J. Wülfing, Neuß)
Verwendet wurden die von der Fa. Bencard für Intracutanteste hergestellten Allergenlösungen (Hausstaubmilbe = Dermatophages pteronyssimus, Katzenhaare und Gräserpollen) in einer 1:1000 Verdünnung mit TRIS-Puffer.
- i) Calcium⁺⁺Ionophore (A 23187) in einer "stock solution" von 1 mg/ml in Äthanol (Sigma GmbH).
Calcium⁺⁺Ionophore ist eine Substanz, die die Eigenschaft hat, den Calciumeinstrom ins Zellinnere zu fördern. Es ist ein potenter nicht-immunologisch wirksamer Histaminliberator (87).

Nach Dosis-Wirkungs-Versuchen wurden die meisten Ansätze in einer Verdünnung von 1:1000 der "stock solution" durchgeführt, was einer Konzentration von $4 \times 10^{-6} \text{ M}$ in der Endverdünnung entspricht.

j) Perchlorsäure

Verwendet wurden 2- bzw. 70%ige Verdünnungen einer für Laborzwecke handelsüblichen Lösung.

6. Statistische Auswertung

Der Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung wurden aus den Meßergebnissen nach den üblichen Methoden berechnet.

Für den Mittelwert als Quotient der Summe der Einzelwerte durch die Anzahl (n) der Versuche gilt:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x}{n}$$

Die Standardabweichung wird nach der Formel:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
 berechnet.

Der mittlere Fehler des Mittelwertes (Standard Error of the Mean: SEM), der im folgenden angegeben wird, berechnet sich:

$$\text{SEM} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Für die Signifikanzprüfung, d.h. für die Prüfung, ob ein echter Unterschied zwischen den Meßergebnissen besteht, wurde der Student-t-Test angewandt.

Für den Wert t gilt:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{(s_1)^2}{n_1} + \frac{(s_2)^2}{n_2}}}$$

Bei einer vorhergewählten Irrtumswahrscheinlichkeit p ist ein Unterschied zwischen zwei Meßergebnissen dann signifikant, wenn der empirisch errechnete Wert t größer oder gleich dem für die Student-t-Verteilung tabelliertem Wert ist, wobei die Zahl der Freiheitsgrade zu beachten ist.

Ein Unterschied gilt hier als signifikant, wenn $p < 0,005$ bzw. $p < 0,01$ ist, was an den entsprechenden Stellen im Ergebnisteil ausgewiesen wird.

C Ergebnisse

1. Einfluß cholinergcr Stimulierung auf die Histaminfreisetzung

1.1. Histaminfreisetzung durch Carbachol

In einer ersten Versuchsreihe wurde untersucht, ob Carbachol allein bei basophilen Granulozyten einen histaminfreisetgenden Effekt hat, d.h. ob Carbachol selbst als Histaminliberator wirkt.

Dazu wurden Zellen von Atopikern und Kontrollpersonen zusammen mit Carbachol in verschiedener Konzentration von $10^{-3}M$ - $10^{-8}M$ inkubiert. Es zeigte sich nur bei ganz wenigen der Versuchspersonen eine Histaminfreisetzung, die über der im Leerwert ermittelten zufälligen Freisetzung lag. Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse bei 7 Atopikern und 5 Kontrollpersonen. Es werden jeweils die Differenzen zum Leerwert in Prozent der Gesamtmenge an Histamin angegeben.

Tab. 3: Histaminfreisetzung durch Carbachol allein in % des Gesamthistamins.

Atopiker	Carbachol-Verdünnung					
Prob.Nr.	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$	$10^{-6}M$	$10^{-7}M$	$10^{-8}M$
1	0	0	0	0	0	0
2	0,43	0,92	1,0	0	1,2	0
3	0	0	0	0	0	0
4	2,5	3,2	3,1	1,2	0,9	0
5	0	0	0	2,0	0	3,6
6	2,1	4,0	0	0,6	0,8	0
7	2,2	0	0	0	0	0
$\bar{x}$	1,03	1,16	0,58	0,54	0,54	0,51

Kontrollen	Carbachol-Verdünnung					
	$10^{-3}M$	$10^{-4}M$	$10^{-5}M$	$10^{-6}M$	$10^{-7}M$	$10^{-9}M$
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0,6	0,9	1,0	1,2	0
3	3,3	3,3	4,0	2,0	0	0
4	2,0	7,2	0,5	0	0	0
5	0	0	0	3,0	0	0,8
$\bar{x}$	1,06	2,22	1,08	1,2	0,24	0,16

Insgesamt ergab sich also nur eine geringfügige Histaminfreisetzung bei einzelnen Versuchspersonen. Die Ergebnisse sind für keine Verdünnung statistisch signifikant.

1.2. Einfluß von Carbachol auf die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung durch Anti-IgE

1.2.1. Versuche ohne Vorinkubation

In einer Reihe von Vorversuchen wurde zunächst die am besten geeignete Konzentration des immunologischen Histaminliberators Anti-IgE ermittelt. Die Histaminfreisetzung durch Anti-IgE ist nämlich nicht linear konzentrationsabhängig. (93). Die höchste Histaminfreisetzung, sowohl bei Atopikern, als auch bei Normalpersonen, ergab sich bei einer Serumverdünnung des Anti-IgE mit IRIS-Puffer von 1:1000. Fast genauso hoch war die Freisetzung bei der Konzentration 1:100, während sie bei den Konzentrationen 1:10 und 1:10000 stark abfiel. Bei den weiteren Versuchen wurde daher die Verdünnung 1:1000 verwandt.

Um die cholinergen Einflüsse auf die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung durch Anti-IgE zu testen, wurden zunächst Zellen von 14 Atopikern und 10 Normalpersonen gleichzeitig mit Anti-IgE in gleicher und Carbachol in abfallender Konzentration stimuliert.

Tabelle 4 zeigt die Mittelwerte und die Differenzbeträge zur Histaminfreisetzung durch Anti-IgE allein in Prozent des in den Zellen enthaltenen Gesamthistamins.

Tab. 4: Mittelwerte der durch Anti-IgE allein, sowie durch Anti-IgE in abfallender Konzentration erzielten Histaminfreisetzung

Atopiker	Anti-IgE	Anti-IgE + Carb. $10^{-3}M$	D	Anti-IgE + Carb. $10^{-4}M$	D	Anti-IgE + Carb. $10^{-5}M$	D
$\bar{x}$	34,35	35,9	1,55	37,65	3,30	35,09	0,74
s	22,20	21,15		20,99		23,0	
SEM	5,93	5,65		5,60		6,14	
Normalpers.							
$\bar{x}$	31,0	33,0	2,0	33,1	2,1	29,9	-1,1
s	11,48	12,91		16,49		11,90	
SEM	3,63	4,08		5,21		3,76	

In Abbildung 1 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Carbachol bewirkt eine konstante Erhöhung der Histaminfreisetzung, allerdings von nur geringem Ausmaß (ca. 3%). Am größten ist sie bei der Konzentration $10^{-4}M$ in der Gruppe der Atopiker, jedoch bestehen keine größeren Unterschiede zwischen Atopiker und Kontrollpersonen. Es fällt aber auf, daß die Werte der Atopiker generell etwas höher liegen, als die der nicht-atopischen Kontrollen.

Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse der einzelnen Versuchspersonen in der Verdünnung $10^{-4}M$. Es zeigt sich eine erhebliche Schwankung in der Gruppe der Kontrollpersonen. Einer zum Teil erheblichen Mehrfreisetzung bei einzelnen Versuchspersonen stehen Hemmungen der Histaminfreisetzung bei anderen gegenüber. Während bei den Atopikern immerhin 11 von 14 Versuchspersonen eine Mehrfreisetzung und nur 3 eine Hemmung aufweisen, ist das Verhältnis bei den Normalpersonen 5:5.

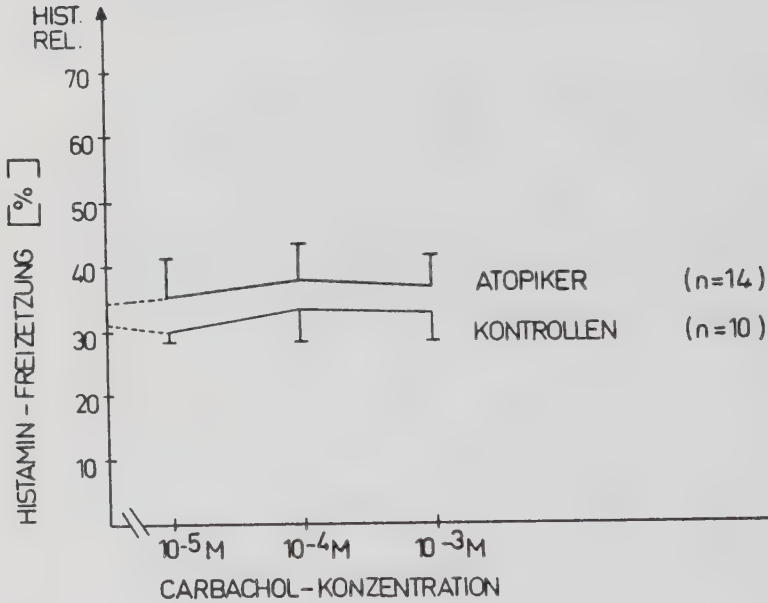


Abb. 1: Auswirkung von Carbachol in ansteigender Konzentration auf den durch Anti-IgE induzierten Histaminrelease (ohne Vorinkubation)

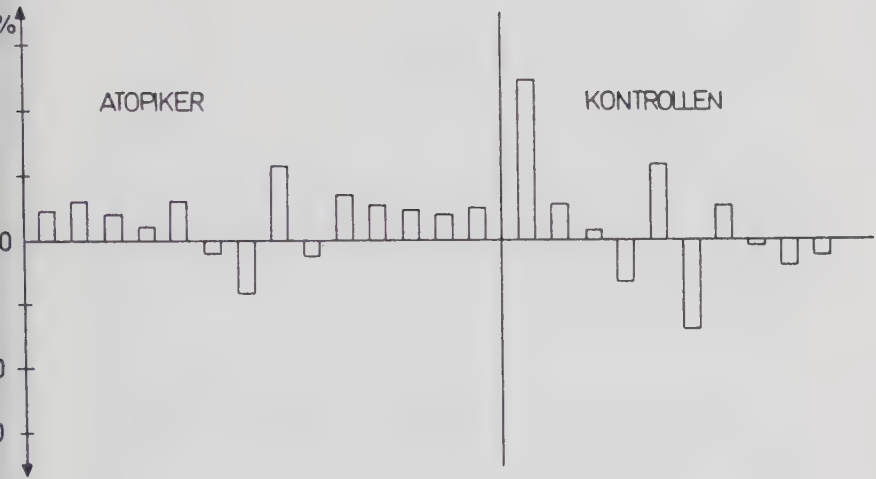


Abb. 2: Mehrsekretion bzw. Hemmung des Histaminrelease bei den einzelnen Versuchspersonen in Prozent des Gesamthistamingehaltes (ohne Vorinkubation) durch Carbachol $10^{-4}M$

1.2.2 Versuche mit Vorinkubation

Bei weiteren 19 Atopikern und 24 Kontrollpersonen wurde die Histaminfreisetzung gemessen, nachdem die Zellen 10 Minuten lang mit $10^{-4}M$ Carbachol vorinkubiert wurden und erst anschließend die Stimulation mit Anti-IgE erfolgte.

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse bei den Atopikern. Bei 17 Probanden kam es zu einer Mehrfreisetzung, nur bei 2 zu einer Hemmung. Ähnlich war das Bild bei den Kontrollen (Abb.4) mit einer Mehrfreisetzung bei 20, Hemmung bei 4 Versuchspersonen. Der höchste prozentuale Anteil am Gesamtgehalt der Probe an Histamin, der durch Carbachol mehr freigesetzt wurde, betrug 21,4% bei einem Atopiker, 16,5% bei einer Kontrollperson. Bei den Hemmungen betragen die entsprechenden Zahlen 7,5% bei den Atopikern, 6,6% bei den Kontrollen.

Im Mittel berechnete sich die durch Carbachol erzielbare Erhöhung der Anti-IgE induzierten Histaminfreisetzung bei den Atopikern als: $D = 5,95\%$ ($SEM = 1,55\%$), bei den Kontrollen als: $D = 3,88\%$ ($SEM = 1,07\%$).

Abbildung 5 zeigt die Mittelwerte bei den Versuchen mit und ohne Vorinkubation im Vergleich:

Atopiker ohne Vorinkubation:	+ Anti-IgE	34,35% ($SEM = 5,93\%$)
	+ Anti-IgE und Carbachol $10^{-4}M$	37,65% ($SEM = 5,60\%$)
	D	= 3,3%
Atopiker mit Vorinkubation:	+ Anti-IgE	32,4% ($SEM = 3,21\%$)
	+ Anti-IgE und Carbachol $10^{-4}M$	38,35% ($SEM = 4,05\%$)
	D	= 5,95%

Kontrollen

ohne Vorinkubation: + Anti-IgE 31,0% (SEM = 3,63%)
 + Anti-IgE und Carbachol $10^{-4}M$
 33,1% (SEM = 5,21%)
 D = 2,1%

Kontrollen

mit Vorinkubation: + Anti-IgE 31,25% (SEM = 3,68%)
 + Anti-IgE und Carbachol $10^{-4}M$
 35,11% (SEM = 4,12%)
 D = 3,88%

Noch deutlicher zeigt sich die durch Vorinkubation erzielbare Steigerung des Histaminmehrrelease in Abbildung 6, in der die Mittelwerte der Differenzen (Delta-Werte) der Versuche mit und ohne Vorinkubation einander gegenübergestellt sind. Durch Vorinkubation wird fast eine Verdoppelung der Histaminmehrfreisetzung erreicht.

Die Mehrfreisetzung ist bei den Versuchen mit Vorinkubation mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% ($p < 0,01$) sowohl bei den Atopikern, wie auch bei den Normalpersonen statistisch signifikant. Ohne Vorinkubation ergibt sich eine Signifikanz nur für die Gruppe der Atopiker bei einer Carbacholverdünnung von $10^{-4}M$ ($p < 0,05$).



Abb. 3: Mehrsekretion bzw. Hemmung des Histaminrelease durch Carbachol 10^{-4} in Prozent des Gesamthistamin-gehalts bei 19 Atopikern (mit Vorinkubation)

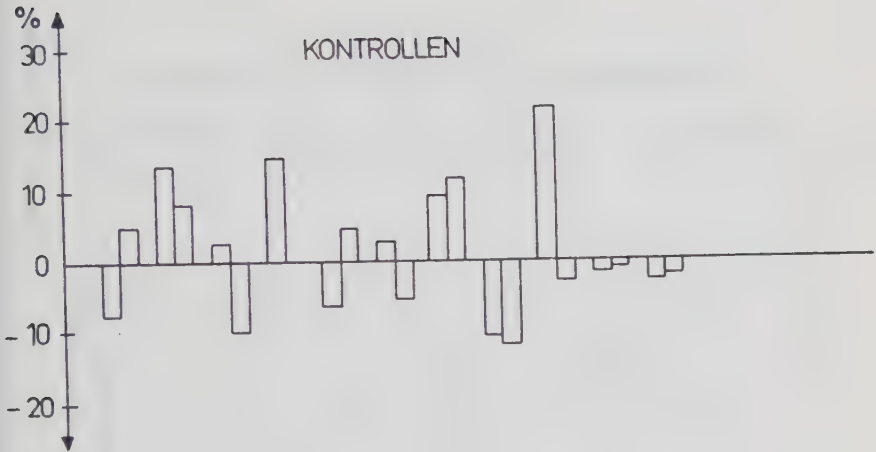


Abb. 4: Mehrsekretion bzw. Hemmung des Histaminrelease durch Carbachol 10^{-6} M in Prozent des Gesamthistamingehalts bei 24 Normalpersonen (mit Vorinkubation)

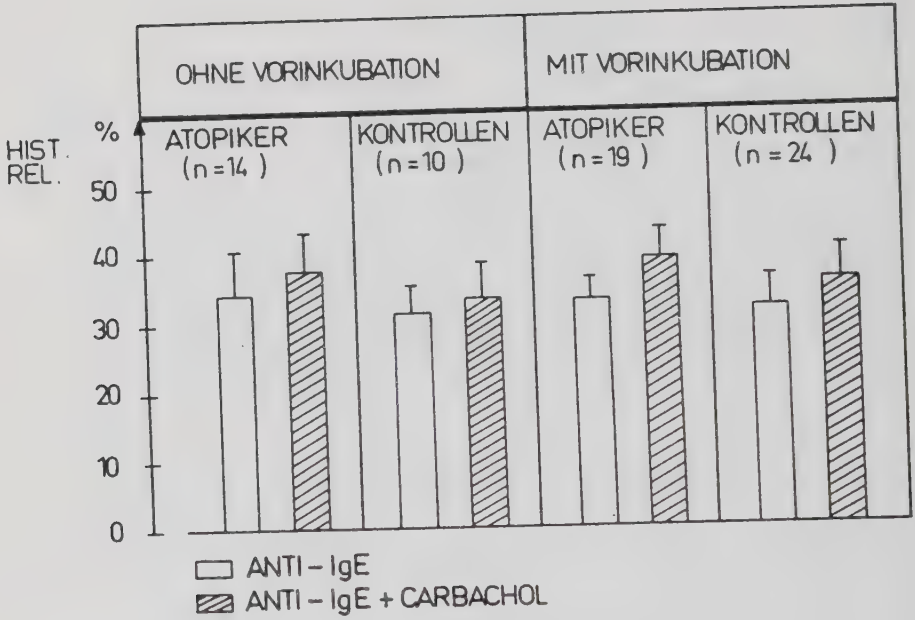


Abb. 5: Auswirkung von Carbachol 10^{-6} M auf die Anti-IgE induzierte Histaminfreisetzung: Gegenüberstellung der Mittelwerte ($\bar{x} \pm d \bar{x}$)

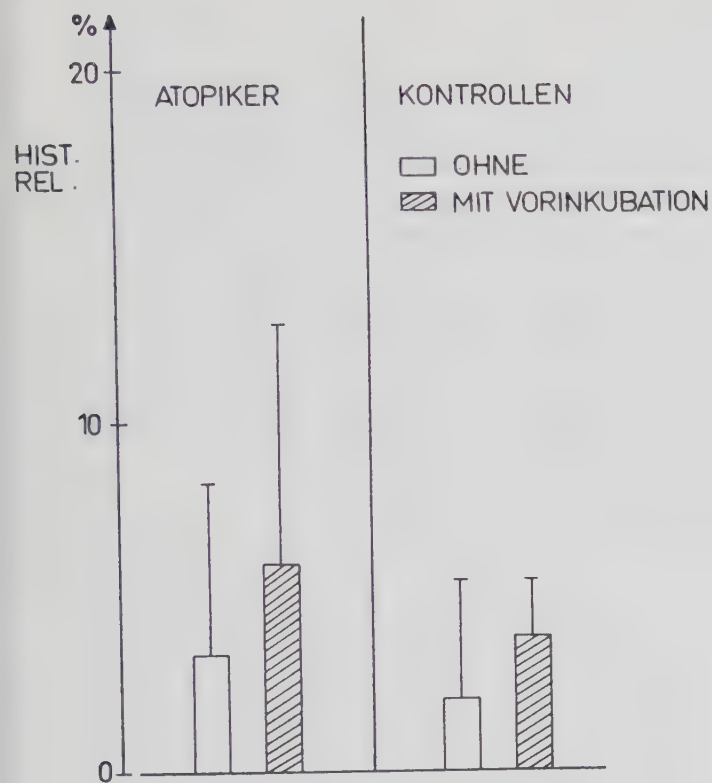


Abb. 6: Auswirkung der Vorinkubation auf die Mehrfreisetzung von Histamin durch Carbachol 10^{-4} M. Dargestellt sind die Mittelwerte der Differenzen (Delta-Werte)

1.3. Aufhebung der durch Carbachol erreichten Mehrfreisetzung durch Atropin

Bei einer weiteren Gruppe von 5 Atopikern und 10 Normalpersonen wurde versucht, die durch Carbachol erreichte Mehrfreisetzung von Histamin durch den spezifischen Antagonisten Atropin wieder rückgängig zu machen, um dadurch den Mehrrelease als Effekt einer spezifischen Rezeptorstimulation durch Carbachol zu sichern. Dazu wurden Zellen mit äquimolaren Konzentrationen ($10^{-4}M$) von Carbachol und gleichzeitig Atropin 10 Minuten vorinkubiert und anschließend die Histaminfreisetzung durch Anti-IgE induziert. Die Ergebnisse der Messungen zeigt die Tabelle 5.

Tab. 5: Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE, Anti-IgE und Carbachol, sowie Anti-IgE, Carbachol und Atropin

Atopiker	+ Anti-IgE	+ Anti-IgE + C. $10^{-4}M$	D	+ Anti-IgE + C. $10^{-4}M$ + A. $10^{-4}M$	D	D _{C-A}
1	20,5	22,8	2,3	19,7	- 0,8	- 3,1
2	41,7	42,5	0,8	25,3	-16,4	-17,2
3	22,7	29,9	7,2	24,6	+ 1,9	- 5,3
4	19,2	32,9	13,7	28,2	+ 9,0	- 4,7
5	19,4	25,1	5,7	23,8	+ 4,4	- 1,3
$\bar{x}$	24,7	30,6	5,94	24,3	- 0,4	- 6,3
s	9,6	7,7	5,0	3,0	9,6	6,3
SEM	4,3	3,4	2,2	1,4	4,3	2,8

Kontrollen	+ Anti-IgE	+ Anti-IgE + C. 10^{-4} M	D	+ Anti-IgE + C. 10^{-4} M + A. 10^{-4} M	D	D _{C-A}
1	21,6	32,8	11,2	33,8	+12,2	+1,0
2	25,1	29,4	4,3	30,7	+ 5,6	+1,3
3	36,8	37,2	0,4	36,8	0	-0,4
4	26,0	34,7	8,7	33,2	+ 7,2	-1,5
5	48,0	51,9	3,9	49,9	+ 1,9	-2,0
6	17,6	23,0	5,4	16,3	- 1,3	-6,7
7	54,2	66,6	12,4	71,0	+16,4	+4,4
8	9,0	13,2	4,2	6,6	- 2,3	-7,2
9	9,9	12,3	2,4	6,3	- 3,9	-6,0
10	10,3	13,7	3,4	12,0	+ 0,7	-1,7
$\bar{x}$	25,8	31,5	5,6	29,6	+ 3,7	-1,9
s	15,9	17,6	3,9	20,4	6,6	3,8
SEM	5,0	5,6	1,2	6,4	2,1	1,2

Die Mittelwerte sind in Abbildung 7 graphisch dargestellt. Bei den Atopikern ist die Mehrfreisetzung durch Carbachol nur knapp unter der statistischen Signifikanzschwelle ($t = 2,6405$, gefordert ist $t = 2,7764$) bei insgesamt geringer Fallzahl. Durch Zugabe von Atropin werden die Werte wieder deutlich geringer, im Mittel sinken sie sogar etwas unter den Ausgangswert. Eine statistische Signifikanz besteht jedoch bei der geringen Fallzahl für dieses Ergebnis auf dem 95 %-Niveau ebenfalls nicht.

Etwas anders sieht das Ergebnis bei den Kontrollpersonen aus. Zwar war die Mehrfreisetzung durch Carbachol fast genauso hoch wie bei den Atopikern und bei größerer Fallzahl auch statistisch signifikant ($p < 0,01$), jedoch gelang durch Atropinzugabe nur eine geringfügige Verringerung der Mehrfreisetzung um 1,9 % des Gesamthistaminreleases im Mittel.

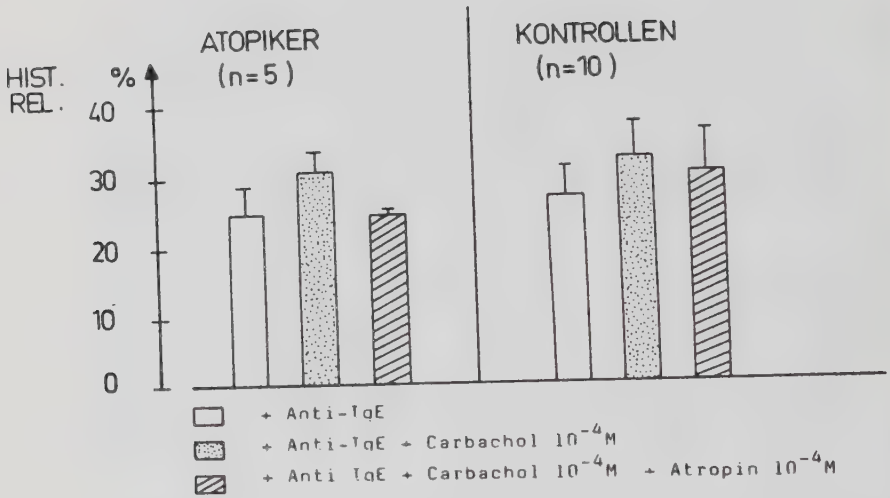


Abb. 7: Auswirkung von Carbachol $10^{-4}M$ sowie von Carbachol $10^{-4}M$ + Atropin $10^{-4}M$ auf die Anti-IgE induzierte Histaminfreisetzung. ($\bar{x} \pm d \bar{x}$)

Das Ergebnis ist somit für die Hemmung der Histaminmehr-freisetzung durch Atropin nicht signifikant ($p > 0,05$).

Um eine eigene "intrinsic activity" des Atropins auf die Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten auszuschließen, wurden bei 7 Atopikern und 6 Kontrollpersonen Zellen mit Atropin allein und mit Atropin ($10^{-4}M$) und Anti-IgE inkubiert (mit Vorinkubation). Bei den Versuchen mit Atropin allein ergaben sich nur vereinzelt unbedeutende Histaminfreisetzungen, bei den immunologisch induzierten Freisetzungsreaktionen ergab sich bei der Gruppe der Atopiker eine Mehrfreisetzung von 1,4 %, bei den Kontrollen eine Hemmung um 3,5 % im Mittel. Bei großer Streuung waren die Ergebnisse statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$), so daß von einer Wirkungslosigkeit des Atropins auf die Histaminfreisetzung ausgegangen werden kann.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 für die Mittelwerte festgehalten.

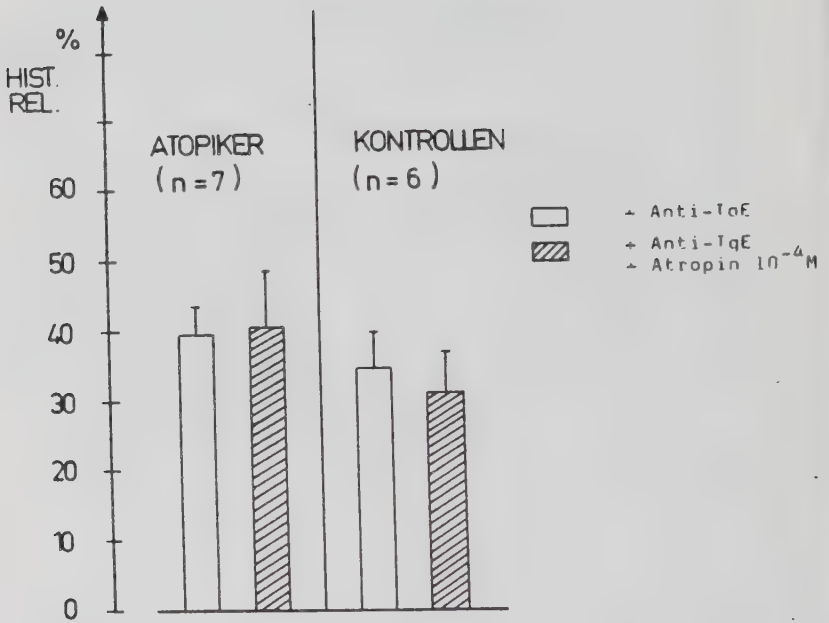


Abb. 8: Effekt von Atropin 10^{-4} M auf die Anti-IqE induzierte Histaminfreisetzung; Gegenüberstellung der Mittelwerte

1.4. Einfluß cholinergischer Stimulierung auf die Histaminfreisetzung durch spezifisches Antigen

Die Histaminfreisetzung, die durch spezifisches Antigen bei sensibilisierten Personen ausgelöst wird, unterscheidet sich im Mechanismus wahrscheinlich nicht vom durch unspezifische Antikörper gegen IgE induzierten Release.

Um die *in vitro*-Wirkung von Carbachol auf den spezifisch induzierten Histaminrelease zu prüfen, wurden Zellen von Atopikern und Normalpersonen zusammen mit verdünnten Antigenlösungen und Carbachol (10^{-4} M) inkubiert. Als Antigene wurden die bei Atopikern besonders relevanten Inhalationsallergene Katzenepithel, Hausstaubmilbe und Gräserpollen verwandt.

Abbildung 9 und 10 zeigen die Ergebnisse für die Mittelwerte. Statistisch signifikant war nur die Mehrfreisetzung um 4,18 % im Mittel beim Antigen Katzenepithel in der Gruppe der Atopiker. Die übrigen Ergebnisse blieben bei großer Streuung unterhalb des geforderten Signifikanzniveaus.

Wie zu erwarten, war die Histaminfreisetzung in der Gruppe der Atopiker deutlich höher, als in der Gruppe der Normalpersonen. Zu beachten ist, daß die Versuche ohne Vorinkubation durchgeführt wurden.

Berücksichtigt werden muß ferner, daß es sich bei den Lösungen zur Prick-Testung nicht um reine und homogene Substanzen handelt. Zur Berechnung der Ergebnisse wurde jedoch die Eigenfluoreszenz bzw. der eigene Histamingehalt durch Subtraktion eines jeweils mitgemessenen Leerwertes mit einberechnet.

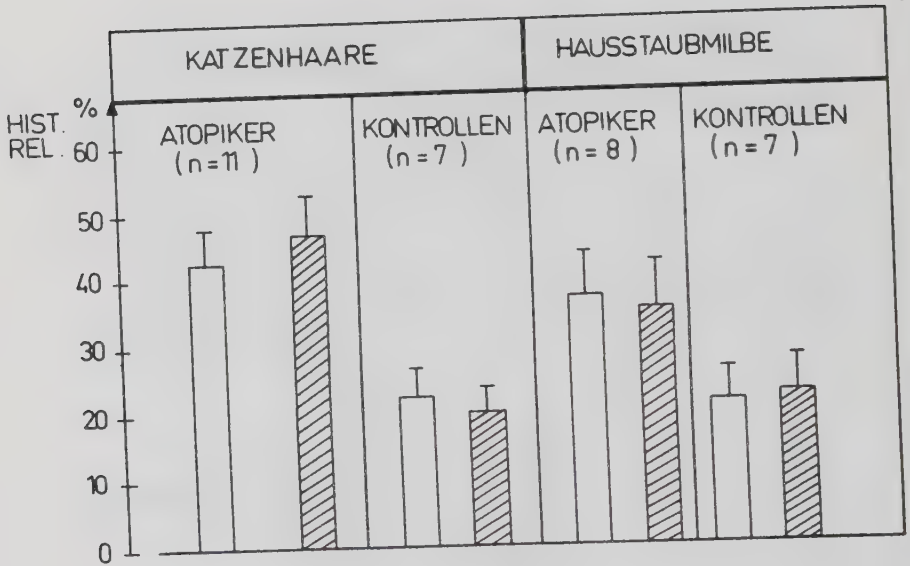


Abb. 9: Auswirkung von Carbachol $10^{-4}M$ auf die durch spezifische Allergene induzierte Histaminfreisetzung: Gegenüberstellung der Mittelwerte (ohne Vorinkubation)

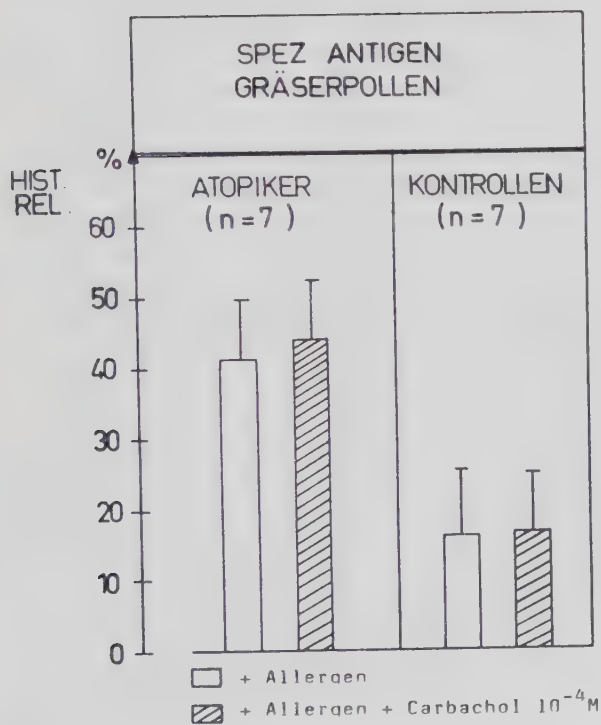


Abb. 10: Auswirkung von Carbachol 10^{-4} M auf die durch spezifische Allergene induzierte Histaminfreisetzung: Gegenüberstellung der Mittelwerte (ohne Vorinkubation)

1.5. Einfluß cholinergischer Stimulierung auf die nicht-immunologisch induzierte Histaminfreisetzung

In einer weiteren Versuchsreihe sollte der Einfluß von Carbachol auf die nicht-immunologisch induzierbare Histaminfreisetzung gemessen werden. Als Histaminliberator wurde Calcium⁺⁺-Ionophore (A23187) verwandt. Die gewählte Verdünnung lag aufgrund von Vorversuchen bei 1 mg Ionophore gelöst in 1 ml Äthanol / 1000 ml TCM-Puffer. Die Versuche wurden an Zellen von 11 Atopikern und 11 Normalpersonen durchgeführt. Die Zellen wurden mit Carbachol ($10^{-4}M$) und Carbachol ($10^{-4}M$) und Atropin ($10^{-4}M$) 10 Minuten vorinkubiert und anschließend die Histaminfreisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore induziert. Als Vergleichswerte wurden die Histaminfreisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore allein ermittelt. Abbildung 11 zeigt die Ergebnisse im Mittel.

Die Histaminfreisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore war bei den Atopikern wesentlich (um 37,9%) höher als bei den Kontrollen. Durch Carbachol wurde bei beiden Gruppen im Mittel etwas mehr Histamin (um 2 %), durch Carbachol und Atropin etwas weniger (um 1,5%) Histamin freigesetzt.

Abbildung 12 und 13 zeigen die Ergebnisse bei den einzelnen Versuchspersonen. Dargestellt ist die Mehr- bzw. Minderfreisetzung durch Carbachol bzw. Carbachol und Atropin. Man erkennt eine große Streuung der Ergebnisse vor allem bei den Versuchen mit Atropin. Bei 2 Atopikern war die Histaminfreisetzung bereits durch Calcium⁺⁺-Ionophore allein maximal. Eine statistische Signifikanz ergab sich für die Ergebnisse nicht ($p < 0,05$). Eine Wirkung von Carbachol in der angewandten Verdünnung auf die durch Calcium⁺⁺-Ionophore auslösbare Histaminfreisetzung ist daher unwahrscheinlich.

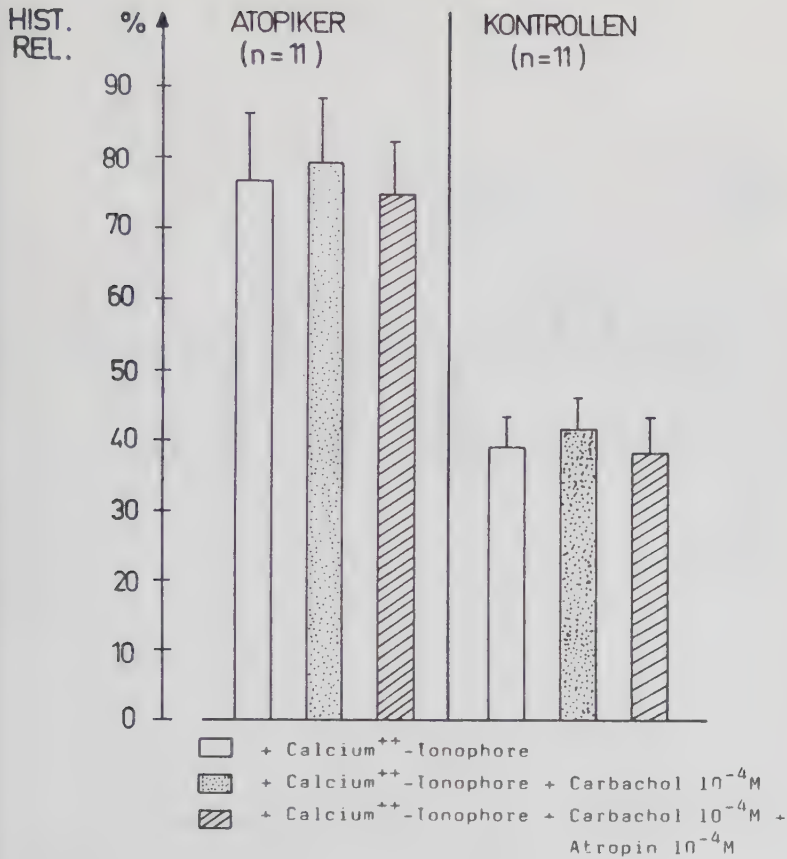


Abb. 11: Auswirkung von Carbachol 10⁻⁴M, sowie Carbachol 10⁻⁴M + Atropin 10⁻⁴M auf den durch Calcium⁺⁺-Ionophore induzierten Histaminrelease: Gegenüberstellung der Mittelwerte.

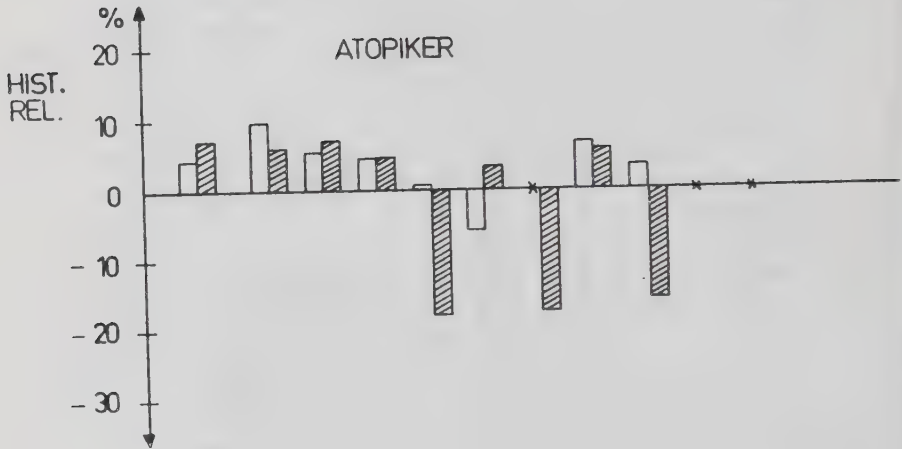


Abb. 12: Mehrsekretion bzw. Hemmung der Ca-Ionophore-induzierten Histaminfreisetzung durch Carbachol $10^{-4}M$ sowie Carbachol $10^{-4}M$ + Atropin $10^{-4}M$ (gestrichelt) bei 11 Atopikern in Prozent des Gesamthistamingehaltes. (* = max. Freisetzung durch Calcium-Ionophor allein)



Abb. 13: Mehrsekretion bzw. Hemmung der Ca-Ionophore-induzierten Histaminfreisetzung durch Carbachol $10^{-4}M$ sowie Carbachol $10^{-4}M$ + Atropin $10^{-4}M$ (rechts) bei 11 Normalpersonen in Prozent des Gesamthistamin-gehaltes (10 min. Vorinkubation)

1.6. Zusammenfassung der Versuche zum Einfluß cholinerg Stimuli auf die Histaminfreisetzung.

Eine direkte histaminfreisetzende Wirkung durch Carbachol ergab sich weder bei hohen ($10^{-3}M$) noch bei niederen (10^{-8}) Konzentrationen. Die durch Antikörper gegen Immunglobulin E auslösbare Histaminfreisetzung wird durch Carbachol in der Konzentration $10^{-4}M$ vermehrt, wobei durch Vorinkubation der Histaminmehrfreisetzung um 80% in der Gruppe der Atopiker, um 84 % in der Gruppe der Normalpersonen noch gesteigert wird. Eine statistische Signifikanz des Ergebnisses ergibt sich für die Atopiker bereits bei den Versuchen ohne Vorinkubation ($p < 0,05$), bei beiden Gruppen bei den Versuchen mit Vorinkubation ($p < 0,01$).

In beiden Gruppen ließ sich die durch Vorinkubation mit Carbachol freisetzbare Histaminmehrfreisetzung durch Atropin hemmen, wobei das Ergebnis bei den Atopikern deutlicher ausfiel. Bei insgesamt geringer Fallzahl waren die Ergebnisse jedoch statistisch nicht signifikant.

Die Versuche zur cholinergen Stimulierbarkeit der Histaminfreisetzung durch spezifisches Antigen wurden ohne Vorinkubation durchgeführt. Eine statistisch signifikante ($p < 0,05$) Mehrfreisetzung ergab sich nur beim Allergen Katzenepithel in der Gruppe der Atopiker.

Nicht signifikant waren schließlich die bei der Zugabe von Carbachol sich ergebenden Unterschiede bei der nicht-immunologisch induzierten Histaminfreisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore in beiden Gruppen.

2. Einfluß von Histamin und H₂-Agonisten auf die Histaminfreisetzung basophiler Leukozyten

2.1. Versuche mit Histamin

Die Auswirkung von zugesetztem Histamin auf die Histaminfreisetzung basophiler Leukozyten wurde an 10 Atopikern und 9 Kontrollpersonen getestet. Dazu wurden gewaschene Leukozyten zunächst mit Histamin in zunehmender Konzentration 10 Minuten vorinkubiert, anschließend wurde die Histaminfreisetzung mit Anti-IgE induziert. Zum Vergleich wurden die Werte mit Anti-IgE allein bestimmt. Da das zugesetzte Histamin ebenfalls im Auto-Analyzer mitgemessen wurde, wurden jeweils für jede Verdünnung Kontrollwerte bestimmt, die von den Meßergebnissen abgezogen wurden.

Abbildung 14 zeigt die Ergebnisse für die zunächst gewählten Verdünnungen (= 0,1 ng - 0,001 ng/ml). Im Mittelwert ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Deshalb wurden die Versuche bei einer Verdünnung von 10 ng/ml bei einer anderen Gruppe von Atopikern und Normalpersonen wiederholt. Dabei entstand das Problem, daß das zugesetzte Histamin in den meisten Fällen mengenmäßig größer war als das freigesetzte.

Daraus ergab sich, daß auch geringfügige Pipettierfehler das Ergebnis beeinflussen konnten. Die mögliche Fehlerquote ist daher relativ groß.

Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse für 5 Atopiker und 10 Normalpersonen.

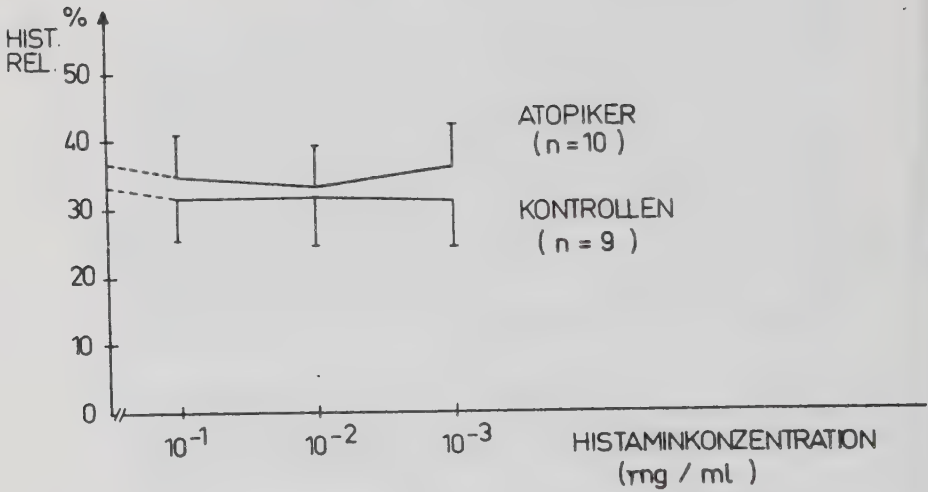


Abb. 14: Auswirkung von exogen zugesetztem Histamin in unterschiedlichen Konzentrationen auf die durch Anti-IgE induzierte Histaminfreisetzung ($\bar{x} \pm d \bar{x}$)

Tab.6: Ergebnisse bei Vorinkubation mit Histamin
(10 ng/ml) und anschließender Histaminfrei-
setzung durch Anti-IgE

Atopiker	+Anti-IgE	+Anti-IgE +Hist.(10ng/ml)	D
1	20,5	7,3	- 19,7
2	41,7	4,5	- 37,2
3	22,7	0	- 22,7
4	19,2	11,0	- 8,7
5	19,4	5,7	- 13,7
$\bar{x}$	24,7	5,7	- 20,3
s	9,6	4,0	10,9
SEM	4,3	1,7	4,9
Kontrollen			
1	21,6	25,9	4,3
2	25,1	35,0	9,9
3	36,8	37,8	1,0
4	26,0	26,5	0,5
5	48,0	32,5	- 15,5
6	14,6	25,7	8,7
7	54,2	50,0	- 4,2
8	9,0	0	- 9,0
9	9,9	6,7	- 3,2
10	10,3	3,0	- 7,3
$\bar{x}$	25,8	24,2	- 1,6
s	15,9	17,2	7,9
SEM	5,0	5,4	2,5

Während bei der Gruppe der Atopiker bei einer insgesamt niedrigen Fallzahl eine deutliche Hemmung der Histaminfreisetzung durch Vorinkubation mit Histamin zu sehen ist, die eine statistische Signifikanz hat ($p < 0,05$), ist in der Gruppe der Normalpersonen eine große Streuung der Ergebnisse zu sehen. Es zeigt sich keine statistische Signifikanz ($p > 0,05$).

2.2. Versuche mit dem spezifischen H_2 -Agonisten Impromidine

Der spezifische H_2 -Agonist Impromidine hat im Unterschied zu Histamin keine Eigenfluoreszenz, die im Auto-Analyzer zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen könnte. Da der vermutete Hemmeffekt des Histamins auf einer Stimulierung der H_2 -Rezeptoren beruhen soll (85), ist Impromidine besonders geeignet, diese Wirkung zu testen. Dafür wurden Zellen von je 10 Atopikern und Normalpersonen untersucht. Die Ergebnisse für ansteigende Konzentrationen im Mittelwert zeigt Abbildung 15. In beiden Gruppen kommt es zu einer deutlichen, konzentrationsabhängigen Hemmung des durch Anti-IgE ausgelösten Histaminrelease. Die Versuche wurden dabei mit Vorinkubation ausgeführt.

Es zeigt sich, daß die Hemmwirkung bei der Gruppe der Atopiker bei der Impromidine Konzentration 10^5 ng/ml am ausgeprägtesten ist. Bei den Kontrollen ist die entsprechende Verdünnung der zugesetzten Impromidine Lösung 10^4 ng/ml . Bei beiden Gruppen ist bei 10^2 ng/ml fast keine Hemmwirkung mehr vorhanden. Die Hemmung ist nicht streng linear konzentrationsabhängig, sondern Impromidine hemmt bis zur Konzentration 10^3 ng/ml die Histaminfreisetzung relativ stark (30-50%), während die Inhibition bei der Konzentration 10^2 ng/ml stark abfällt (10%).

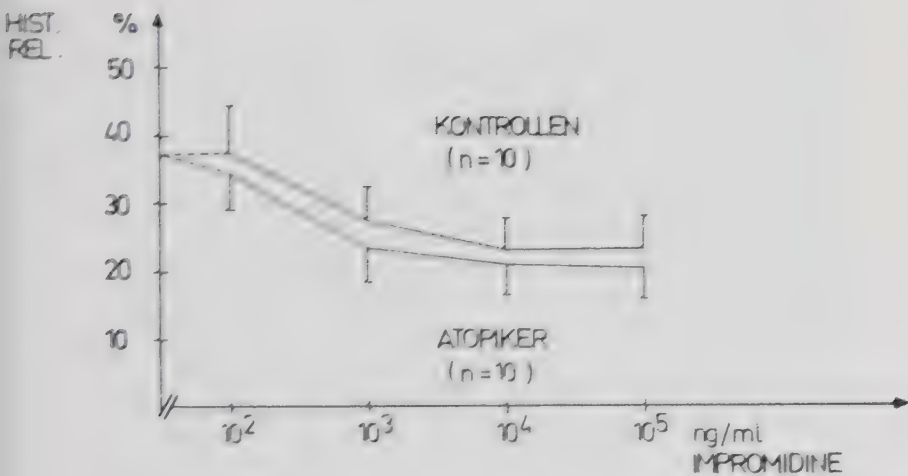


Abb. 15: Auswirkung von Impromidine in ansteigender Konzentration auf den durch Anti-IgE induzierten Histaminrelease (Mittelwerte)

Statistisch ist die Inhibition der Histaminfreisetzung für die Konzentration $10^5 - 10^3$ ng/ml in beiden Gruppen signifikant ($p < 0,01$), während sich für die Konzentration 10^2 ng/ml keine Signifikanz ergibt ($p > 0,05$).

2.3. Versuche zur Blockierung der H_2 -Wirkung an den Histaminrezeptoren durch Cimetidin

Der spezifische H_2 -Antagonist Cimetidin wurde in einer Versuchsreihe eingesetzt, um die Hemmwirkung des Impromidine wieder aufzuheben.

Dabei wurden Zellen von 5 Atopikern und 10 Normalpersonen mit Impromidine in abfallender Konzentration, sowie Impromidine in abfallender Konzentration zusammen mit Cimetidin in gleichbleibender Konzentration 10 Minuten vorinkubiert, und anschließend die Histaminfreisetzung durch Anti-IgE induziert.

Cimetidin wurde dabei in einer relativ hohen Konzentration (1 mg/ml) im Überschuß eingesetzt.

Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse der einzelnen Versuchspersonen für die Impromidine-Konzentrationen 10^4 und 10^2 ng/ml.

Tab.7: Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE, Anti-IgE und Impromidine, sowie Anti-IgE, Impromidine und Cimetidin in % des Gesamthistamins

Atopiker	+A-IgE	+A-IgE +Imp. 10^4	+A-IgE +Imp. 10^4 + C1m.	+A-IgE +Imp. 10^2	+A-IgE +Imp. 10^2 +C1m.
1	20,5	16,5	15,1	17,0	13,6
2	41,7	10,2	8,0	33,3	11,4
3	22,7	9,6	11,8	18,9	18,5
4	19,2	8,4	9,0	16,5	12,4
5	19,4	13,1	11,4	17,6	21,5
$\bar{x}$	24,7	11,5	11,1	20,6	15,5
s	9,6	3,2	2,8	7,1	4,3
SEM	4,3	1,4	1,2	3,2	1,9

Normalpers.

1	21,6	6,8	4,4	15,6	3,5
2	25,1	18,8	11,0	25,4	27,2
3	36,8	11,2	11,2	28,9	10,0
4	26,0	14,6	13,0	24,0	18,8
5	48,0	25,4	27,1	38,8	36,5
6	17,6	9,6	11,8	18,9	12,5
7	54,2	23,5	22,1	51,2	29,0
8	9,0	6,8	4,1	12,3	11,6
9	9,9	5,0	4,6	10,1	5,2
10	10,3	2,6	0,0	10,6	2,6
$\bar{x}$	25,8	12,4	12,0	23,5	15,5
s	15,9	7,9	9,1	13,3	11,6
SEM	5,0	2,5	2,9	4,2	3,7

In dieser Versuchsanordnung konnte durch Cimetidin keine Blockierung der durch Impromidine erreichbaren Hemmung bewirkt werden. In Abbildung 17 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. In der angewandten hohen Konzentration scheint Cimetidin selbst einen hemmenden Einfluß auf die Histaminfreisetzung auszuüben, wie vor allem die Verstärkung der Hemmung bei der Konzentration 10^2 ng/ml vermuten läßt.

2.4. Zusammenfassung der Versuche zur Hemmung der immunologisch induzierten Histaminfreisetzung durch Histamin und H_2 -Agonisten

Histamin hemmt in der Konzentration 10 ng/ml die Histaminfreisetzung durch Anti-IgE in der Gruppe der Atopiker signifikant. Dabei ist das Ergebnis jedoch durch die Eigenfluoreszenz des zugefügten Histamins mit einer relativ hohen Fehlermöglichkeit belastet. Auf die Gruppe der Normalpersonen hatte Histamin in dieser Konzentration keinen statistisch signifikanten Einfluß.

Der spezifische H_2 -Agonist Impromidine, der selbst nicht fluoresziert, hat eine deutliche, reproduzierbare, signifikante Hemmwirkung auf die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung durch Anti-IgE. Die Hemmwirkung war in der Gruppe der Atopiker stärker ausgeprägt als bei der Kontrollgruppe. Die wirksame Dosis lag bei einer Konzentration von 10^5 bis 10^3 ng/ml. In der verwendeten hohen Konzentration konnte die Impromidine induzierte Hemmung durch den H_2 -Antagonisten Cimetidin nicht blockiert werden.

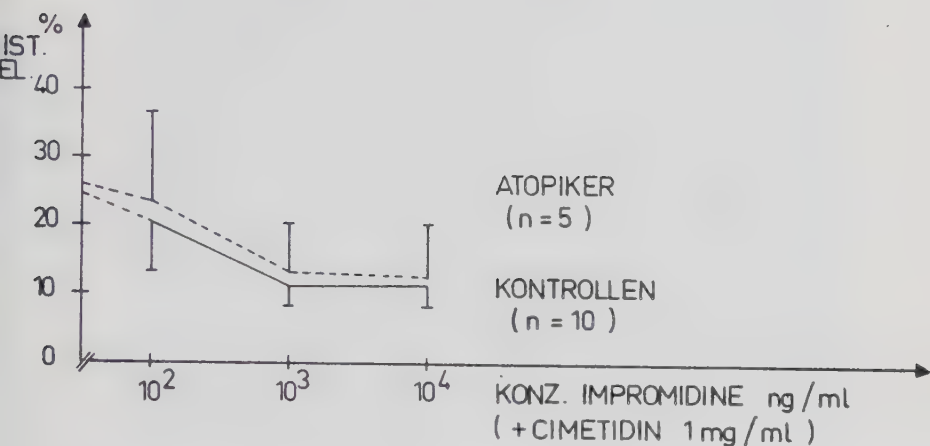


Abb. 16: Wirkung von Impromidine in ansteigender Konzentration + Cimetidin in gleichbleibender Konzentration auf den durch Anti-IoE induzierten Histaminrelease ($\bar{x} \pm d \bar{x}$)

D Diskussion

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Wirkung cholinergischer Stoffe auf die im Zentrum des allergischen Geschehens stehenden histaminfreisetzenden Zellen. Ein direkt Histamin freisetzender Effekt auf menschliche basophile Leukozyten konnte dabei weder bei Atopikern noch bei Nichtatopikern festgestellt werden. Demgegenüber zeigte sich eine statistisch signifikante Steigerung der immunologisch durch Anti-IgE auslösbarer Histaminfreisetzung, die bei Atopikern ausgeprägter war als bei Normalpersonen. Der Effekt ließ sich durch Vorinkubation verstärken und durch Atropin teilweise hemmen. Bei nicht-immunologischer Stimulation der Histaminfreisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore hatten Cholinergika keinen signifikanten fördernden oder inhibierenden Einfluß auf die Histaminfreisetzung. Auf der anderen Seite ließ sich ein inhibierender Effekt von H₂-Agonisten auf die Histaminfreisetzung nachweisen, wobei zwischen Atopikern und Normalpersonen keine signifikanten Unterschiede gefunden werden konnten.

Im folgenden sollen die Ergebnisse im Hinblick auf den aktuellen Forschungsstand über die Regulation der Funktionen immunkompetenter Zellen mit besonderer Beachtung der Histaminfreisetzung durch als Neurotransmitter und Gewebshormone bekannte Substanzen diskutiert werden.

1. Cholinerge Überreaktivität

Seit langem wird ein Zusammenhang zwischen einer Störung des vegetativen Nervensystems und dem Auftreten von atopischen Symptomen vermutet. Die Bezeichnung "Neurodermitis constitutionalis" weist darauf hin (145,162). Die Vermutung wird durch eine Reihe von seit längerem bekannten und ausführlich beschriebenen klinischen Phänomenen gestützt. Haut, Schleimhaut, bestimmte Drüsen und die glatte Muskulatur von Atopikern reagieren auf eine Reihe von Neurotransmittern deutlich unterschiedlich im Vergleich zu Normalpersonen.

Bekannt ist die verspätete Weißreaktion (Delayed blanch) (89): Auf die intradermale Injektion von Azetylcholin erfolgt physiologisch eine reflektorische Weitstellung der Gefäße, die klinisch als Rötung imponiert. Bei Atopikern erfolgt demgegenüber eine der initialen Rötung folgende Vasoconstriction, klinisch eine weiße Zone um die Einstichstelle mit pseudopodienartigen Ausläufern. Der bekannte weiße Dermographismus weist ebenfalls auf eine bei Atopikern gestörte Reaktion der Hautgefäße mit Neigung zu vermehrter Vasoconstriction auf physikalische Reizung hin (159). Schweißdrüsen von Atopikern reagieren auf die Injektion von Azetylcholin mit einer deutlich erhöhten Mehrsekretion im Vergleich zu Kontrollpersonen (156). Diese Wirkung des Azetylcholins wird durch Zugabe von Betarezeptorenblockern (Propanolol) bei Normalpersonen verstärkt, nicht jedoch bei Atopikern (50). Die gesteigerte Sensibilität der Bronchialmuskulatur von Patienten mit Asthma bronchiale ist seit langem bekannt (102) und wird heute routinemäßig in der Diagnosestellung verwandt (55). Auch die glatte Muskulatur der Arteriolen und der Haarwurzeln ist bei Atopikern außergewöhnlich empfindlich auf cholinerge und alphaadrenerge Substanzen (70).

2. Die Regulation der Funktionen immunologisch kompetenter Zellen durch Neurotransmitter und Gewebshormone

2.1. Die Rolle des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats (c-AMP)

Bereits 1936 hatte Schild in sensibilisierter Meerschweinchenlunge eine Hemmung der Histaminfreisetzung durch Adrenalin festgestellt (141). Dieser Entdeckung war damals keine besondere Bedeutung beigemessen worden. Seit der Entdeckung des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats als "second messenger" der Hormonantwort durch Sutherland und Rall im Jahre 1956 (136,137) wurde die Forschung über diese Zusammenhänge jedoch intensiviert. Im Unterschied zu anderen Zellen, in denen Adrenalin über die Erhöhung des intrazellulären c-AMP eine Aktivierung der Zellfunktion und des Zellstoffwechsels bewirkt - z. B. eine Aktivierung der Glykolyse - induzieren Adrenalin und andere das intrazelluläre c-AMP erhöhende Substanzen in immunologisch aktiven Zellen überwiegend eine Inhibition der jeweiligen Zellfunktionen.

Im menschlichen Lungengewebe wurde eine Hemmung der Histaminfreisetzung durch betaadrenerge Substanzen von Assem und Schild (3) nachgewiesen. Einen direkten Zusammenhang mit der Erhöhung des intrazellulären c-AMP konnte die Arbeitsgruppe um Orange e.a. aufzeigen (100,101). Der Betarezeptorenblocker Propanolol blockiert die Hemmung der Histaminfreisetzung durch betaadrenerge Substanzen ebenso wie die vorausgehende Steigerung des intrazellulären c-AMP Spiegels. Für isolierte Rattenmastzellen konnten Sullivan e.a. einen Anstieg des intrazellulären c-AMP nach Inkubation mit Adrenalin feststellen (134,135).

Diese Ergebnisse konnten von Lichtenstein und Gillespie (85) bestätigt werden, die den H_2 -Rezeptor als Wirkort des Histamins auf der Membran der basophilen Leukozyten durch selektive Hemmung lokalisieren konnten. Dabei wurden als selektive H_2 -Antihistaminika die Substanzen Buriamide und Metiamide verwendet. Die hier vorgelegten Ergebnisse mit dem H_2 -Agonisten Impromidine bestätigen nochmals diese Theorie und die Rolle des H_2 -Rezeptors für Histaminwirkungen an basophilen Leukozyten. Die hier fehlende Blockierung der Hemmwirkung ist wahrscheinlich durch die verwendete hohe Dosis des H_2 -Antagonisten Cimetidin bedingt und nicht in einer für Cimetidin fehlenden Ansprechbarkeit des speziellen H_2 -Rezeptors auf der Membran basophiler Leukozyten. Eine spezifische Hemmwirkung von hochdosiertem Cimetidin kann nicht ausgeschlossen werden. Brostoff u.a. berichten von ähnlichen Wirkungen von Cimetidin auf Lymphozyten (17). Weitere Untersuchungen zu diesem Problem sind in Vorbereitung.

Bei neutrophilen Granulozyten hemmt Histamin die Chemotaxis, wobei auch eine "second messenger"-Funktion des c-AMP angenommen wird (110). Ebenso wie durch betaadrenerge Katecholamine konnte Busse auch die lysosomale Enzymfreisetzung durch extrazellulär hinzugefügtes Histamin in vitro hemmen (18,10,21).

Bei menschlichen Lymphozyten gelang es Badger et al. (4) die durch Phytohämagglutinin induzierte Proliferation durch Histamin und H_2 -Agonisten zu hemmen, wobei durch Cimetidin die Hemmung wieder zu blockieren war.

Auch Prostaglandin E schließlich bewirkt eine Erhöhung des c-AMP in den meisten immunologisch aktiven Zellsystemen.

Auch bei menschlichen Leukozyten im peripheren Blut konnten diese Befunde bestätigt werden. Lichtenstein e.a. fanden eine deutliche dosisabhängige Hemmung der Histaminfreisetzung, verbunden mit einer Erhöhung des intrazellulären c-AMP-Spiegels, bei basophilen Leukozyten durch betaadrenerge Substanzen (83,84). Bei neutrophilen Granulozyten fand Ignarro eine durch Adrenalin auslösbare Hemmung der lysosomalen Enzymfreisetzung, die mit einer Erhöhung des intrazellulären c-AMP korrelierte (55,56). Für das Enzym Glucoronidase konnten Busse u.a. diesen Befund bestätigen (21).

Auch verschiedene Funktionen von Lymphozyten unterstehen der Regulation betaadrenerger Hormone, wobei die Wirkung wiederum über c-AMP vermittelt wird (14,52). Katz e.a. konnten in vitro durch Dibutiryl-c-AMP und c-AMP erhöhende Stoffe eine Verstärkung der Plaque-Bildung und der polyklonalen Immunglobulin-Synthese bei B-Lymphozyten erzielen (77). Dabei ist der Mechanismus dieser Verstärkung der B-Lymphozyten wahrscheinlich in einer relativen Hemmung der T-Suppressorzellen und einem dadurch bedingten Anstieg der T-Helferzellfunktion zu suchen (127,148,150). Ebenfalls einen hemmenden Einfluß haben betaadrenerge Substanzen auf die zytotoxische Aktivität (52) und die Motilität von menschlichen Lymphozyten (146).

Neben betaadrenergen Agonisten bewirken auch andere Substanzen einen Anstieg des c-AMP und somit in den meisten Fällen eine Hemmung der Funktionen immunkompetenter Zellen. An erster Stelle sind dabei das Histamin selbst und das Prostaglandin E in Betracht zu ziehen. Bourne e.a. (11,13) wiesen bereits 1971 eine dosisabhängige Inhibition der immunologisch induzierten Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten durch extrazellulär hinzugefügtes Histamin nach, die mit einer Erhöhung des intrazellulär meßbaren c-AMP verbunden war.

Insgesamt stimmt jedoch die Mehrzahl der Autoren in der Beschreibung einer physiologischen Hemmung der Histaminfreisetzung durch Erhöhung des intrazellulären c-AMP überein (54,112,119,122,133,44,148).

2.2. Cholinerge Stimulierung und zyklisches Guanosin-Monophosphat (c-GMP)

Neben der Inhibition der Funktionen immunkompetenter Zellen durch die Erhöhung des c-AMP wird von vielen Autoren ein gegenregulatorisches System, das letztlich zu einer Verstärkung dieser Funktionen führt, angenommen (112,72,120,142). Während die betaadrenergen sympathomimetischen Überträgerstoffe ihre Wirkung über die Stimulation des c-AMP entfalten, scheint der entsprechende "second messenger" der parasympathischen Transmitter, also des Azetylcholins, das zyklische Guanosin-Monophosphat zu sein (45).

Über diesem Regulationsmechanismus ist jedoch weit weniger bekannt. Cholinester wie Azetylcholin, Carbachol oder ähnliche Parasympathikomimetika bewirken in verschiedenen Geweben eine Erhöhung des intrazellulären c-GMP, der oft von einem Abfall des c-AMP begleitet wird. Das gilt für die glatte Muskulatur, Lungengewebe, die Arteria umbilicalis, Schilddrüsengewebe, Pankreaszellen und Leukozyten. Die Wirkung wird dabei über muskarinartige Rezeptoren vermittelt und ist durch Atropin hemmbar. Die Erhöhung des c-GMP ist vom Vorhandensein von Calcium abhängig, die weiteren biochemischen Zusammenhänge sind jedoch nicht bekannt. Neben einer "second messenger"-Wirkung wäre auch ein komplizierter Redoxprozeß als Auslöser der c-GMP-Bildung denkbar, der durch den Neurotransmitter an der Zellmembran ausgelöst wird (97).

Bei Fettzellen von Ratten und bei menschlichen Leukozyten konnten Illiano u.a. durch Insulin und Carbachol in bereits geringen Dosen eine Steigerung des c-GMP um 350% induzieren (58). Auch die Funktionen weißer Blutzellen unterstehen dem Einfluß cholinergischer Überträgerstoffe. Bei menschlichen Lymphozyten bewirkt Carbachol eine Verstärkung der frühen, aber nicht der gesamten, E-Rosettenbildung. Möglicherweise unterliegt nur eine Subpopulation der Lymphozyten cholinergen Einflüssen (41).

In isolierten Rattenmastzellen konnten Sullivan e.a. durch Inkubation mit 10^{-6} M Carbachol den intrazellulären Gehalt an c-AMP um 38% senken und diese Wirkung durch Atropin zu 83% wieder blockieren. Dabei kam es zu einer deutlichen Verstärkung der durch das Compound 48/80 auslösbaren Histaminfreisetzung (134). In menschlichem Lungengewebe gelang es Kaliner e.a. (72), die immunologisch auslösbare Histaminfreisetzung durch Azetylcholin in der Konzentration 10^{-7} M bis 10^{-11} M (Gipfel bei 10^{-9} M) um etwa 40% zu erhöhen. Dieser Effekt war durch Atropin zu blockieren. Ein Zusammenhang mit der intrazellulären c-AMP-Konzentration bestand in diesen Versuchen nicht, wohl aber mit der intrazellulären c-GMP-Konzentration. Im zeitlichen Verlauf zeigte sich ein Anstieg des c-GMP-Spiegels 30 Sekunden nach der Stimulation mit Azetylcholin, ein Höhepunkt nach 120 Sekunden und danach eine rasche Rückkehr zu den Ausgangswerten. Die Histaminfreisetzung zeigte denselben zeitlichen Verlauf. Atropin hemmte neben dem Mediatorenrelease auch die c-GMP-Bildung. Eine längere Vorinkubation hatte keinen Effekt auf die Histaminfreisetzung, weil offensichtlich der Antigenstimulus in den Zeitraum fallen muß, in dem das c-GMP intrazellulär erhöht ist, um die Sekretion zu verstärken (75).

So konnte Kaliner (71) an Rattenmastzellen eine Erhöhung des c-AMP zusammen mit der Inhibition der immunologisch auslösbaren Histaminfreisetzung finden. Dabei konnte durch das die Zellmembran passierende Dibutiryl-c-AMP dieser Effekt reproduziert werden. Bei nicht immunologisch induziertem Histaminrelease durch das basische Peptid Compound 48/80 aus Rattenmastzellen konnte Sullivan (134,135) eine Inhibition durch Prostaglandin E beobachten, während Adrenalin zwar das c-AMP erhöhte, die Histaminfreisetzung aber unbeeinflusst ließ. Der Wirkungsmechanismus zwischen den einzelnen das c-AMP erhöhenden Substanzen im Hinblick auf die Inhibition der Histaminfreisetzung scheint also nicht ganz identisch zu sein. Ebenfalls bei Rattenmastzellen fand Holgate (53) eine Diskordanz zwischen der Erhöhung des c-AMP und der immunologisch induzierten Histaminfreisetzung durch Prostaglandin D₂. Der c-AMP-Spiegel wurde durch das Prostaglandin um das 2- bis 3-fache erhöht, die Histaminfreisetzung blieb jedoch davon unbeeinflusst. Eine mögliche Erklärung für diese z.T. widersprüchlichen Befunde könnte entweder in der Aufteilung des intrazellulären c-AMP in verschiedene Kompartments, die räumlich verschieden lokalisiert sind (158) und von denen ein Teil nicht in die Histaminfreisetzung involviert ist, oder in einer unterschiedlichen Aktivierung von c-AMP abhängiger Proteinkinasen mit verschiedener Wirkung liegen (24).

Darin könnte auch die Erklärung für scheinbar widersprüchliche Beobachtungen liegen. So beschrieben z.B. Stahl-Skov e.a. ein Xanthinderivat, das durch Hemmung der Phosphodiesterase das intrazelluläre c-AMP erhöhte und gleichzeitig die Histaminfreisetzung verstärkte (147).

Für Mastzellen bestehen widersprüchliche Aussagen. Kiernan e.a. fanden keine Histaminfreisetzung durch Azetylcholin bei Rattenmastzellen in den Konzentrationen von 10^{-7} bis 10^{-2} M (78). Demgegenüber beschreiben Fantozzi e.a. (34, 35, 36) in isolierten Rattenmastzellen eine erhebliche Histaminfreisetzung durch Azetylcholin. Die Versuche zeigten einen Gipfel der Histaminfreisetzung bei der Konzentration 10^{-10} M, also in erheblich niedrigerer Dosierung als bei den Versuchen von Kiernan. Die Freisetzungsraten lagen zwischen 60 und 80% des Gesamthistamins und damit noch höher als die durch den potenten nicht-immunologischen Histaminliberator Compound 48/80 erreichten Werte. Es ergab sich eine Blockierung des Freisetzungseffektes durch Atropin und zwar sowohl bei gleichzeitiger Zugabe, als auch nach Präinkubation, anschließender Auswaschung der Mastzellen und darauf folgender Inkubation mit Azetylcholin. Lichtmikroskopische Aufnahmen zeigten die Freisetzung der histaminhaltigen Granula in Form einer Exozytose (34). Weiter war die durch Azetylcholin auslösbare Histaminfreisetzung energie- und calciumabhängig, was durch Inhibition der Histaminfreisetzung bei niederen Temperaturen und EDTA Zugabe demonstriert werden konnte.

Die Ergebnisse von Fantozzi legen einen direkt wirksamen Freisetzungsmechanismus durch Azetylcholin nahe. Von anderen Forschern konnte ein solcher Mechanismus bis auf wenige Ausnahmen nicht bestätigt werden. Die Gruppe um Fantozzi selbst schränkte später ihre Aussage dahin gehend ein, daß eine Histaminsekretion aus Rattenmastzellen direkt durch Azetylcholin nur in bestimmten Zellpopulationen gelingt (37).

Bei isolierten menschlichen Mastzellen konnten Schmutzler e.a. (142, 143) eine dosisabhängige Histaminfreisetzung durch Azetylcholin in der Konzentration 10^6 - 10^{-10} M induzieren.

Interessant bei seinen Versuchen war die Beobachtung, daß die Zellen, die vorher aktiv durch Inkubation mit menschlichem IgE sensibilisiert und anschließend in Anwesenheit von Azetylcholin durch Anti-IgE stimuliert wurden mit einer signifikanten Steigerung der Histaminfreisetzung reagierten, wenn sie auch auf Anti-IgE ansprachen, eine Sensibilisierung also stattgefunden hatte. In zwei von zwanzig Versuchen konnte eine additive Wirkung von Azetylcholin und Anti-IgE beobachtet werden. Das deutet darauf hin, daß Zellen während des Sensibilisierungsprozesses ihre Fähigkeit, auf cholinerge Stimuli zu reagieren, ändern können. Ebenfalls bei menschlichen Mastzellen konnten Poblite-Freund e.a. diese Befunde bestätigen (109).

Für basophile menschliche Leukozyten liegen noch wenige Untersuchungen vor. Ring und O'Connor konnten bei Normalpersonen durch Methylcholin in der Konzentration 10^{-2} bis 10^{-8} M keine signifikante Histaminfreisetzung erzielen, während einige Atopiker mit erheblicher Histaminfreisetzung reagierten (118). In einer anderen Studie (Ring zusammen mit Sedlmair) konnte bei einer kleinen Anzahl von Probanden ($n=5$) die durch Anti-IgE auslösbare Histaminfreisetzung durch gleichzeitige Inkubation mit Carbachol (10^{-4} M) signifikant gesteigert werden, während sich bei anderen Versuchspersonen kein Einfluß des Carbachols auf die Histaminsekretion zeigte (124).

Die hier vorliegenden Ergebnisse an basophilen Leukozyten weisen in die gleiche Richtung. Eine direkte Histaminfreisetzung durch Carbachol konnte nicht beobachtet werden. Die immunologisch durch Anti-IgE ausgelöste Histaminfreisetzung läßt sich jedoch signifikant durch Carbachol steigern, wobei eine Vorinkubation diesen Effekt vermehrt. Die fördernde Wirkung des Carbachols in vitro ist bei Atopikern stärker ausgeprägt als bei Normalpersonen.

2.3. Alphaadrenerge Stimulierung

Neben cholinergen scheinen auch alphaadrenerge Substanzen fördernde Wirkung auf die Histaminfreisetzung zu haben. Darüber liegen jedoch wiederum z.T. widersprüchliche Ergebnisse vor. Während Kiernan (78) und Johnson e.a. (68) keinen Effekt von alphaadrenergen Substanzen wie Noradrenalin feststellen konnten, waren in den Versuchen von Moroni (95) durch Noradrenalin erhebliche Freisetzen von Histamin aus neoplastischen Rattenmastzellen zu erzielen. Die Freisetzung war dabei durch spezifische Alpha-Rezeptorenblocker zu hemmen, was auf die Einschaltung eines spezifischen alphaadrenergen Rezeptors auf der Mastzellmembran rückschließen läßt. Der Histaminfreisetzung parallel ging eine Senkung des intrazellulären c-AMP-Gehaltes, die offenbar ebenso wie die Steigerung des intrazellulären c-GMP die Histaminsekretion zu fördern scheint. Ähnliche Ergebnisse berichteten Kaliner e.a. von Untersuchungen an menschlichem Lungengewebe, wo ebenfalls durch spezifische alphaadrenerge Substanzen eine Erhöhung der Histaminfreisetzung erzielt werden konnte (72). Durch selektive Hemmung mit spezifischen Antagonisten konnte dabei gesichert werden, daß cholinerge und alphaadrenerge Stoffe an verschiedenen Rezeptoren ihre Wirkung entfalten.

Zusammenfassend läßt sich grob vereinfacht ein Modell aufstellen, in dem die zyklischen Nukleotide die intrazellulären Schlüsselsubstanzen darstellen, deren Erhöhung oder Senkung in der beschriebenen Art und Weise den Einfluß von bestimmten Neurotransmittern und Gewebshormonen auf die Histaminfreisetzung und andere Zellfunktionen immunkompetenter Zellen vermitteln (112,122). Unter normalen Bedingungen muß dieses Gleichgewicht stabil sein, d.h. eine habituelle Überreaktion oder eine fehlende Ansprechbarkeit auf die eine oder andere Substanz können zu schwerwiegenden Störungen führen.

3. Störungen des zyklischen Nukleotid-Kontrollsystems bei Atopikern

3.1. Betaadrenerge Blockade

Szentivanyi (138) stellte 1968 die bekannte Theorie von der betaadrenergen Blockade zur Ätiologie des atopischen Asthma bronchiale auf: Danach liegt ein wesentlicher ätiologischer Faktor des atopischen Asthma bronchiale darin, daß Atopiker auf betaadrenerge Reize mit einer abgeschwächten Antwort reagieren, woraus unter anderem eine Abschwächung der inhibitorischen Einflüsse auf verschiedene Zellsysteme resultiert (112). Das Ergebnis dieser fehlenden Hemmung ist eine überschießende Reaktion der Zellen, z.B. eine überschießende Histaminfreisetzung aus Mastzellen, die zu den bekannten klinischen Symptomen führt (117).

In zahlreichen Arbeiten konnte diese Theorie bei verschiedenen Zellsystemen bestätigt werden. Bei Leukozyten von Asthmatikern fanden Parker e.a. einen hochsignifikant niedrigeren Anstieg des zyklischen Adenosin-5'-Monophosphats als bei Normalpersonen (103). Schwierigkeiten mit der Bewertung dieser Ergebnisse ergaben sich zunächst aus der Tatsache, daß bei Patienten, die mit Beta₂-Mimetika vorbehandelt waren ebenfalls eine erhebliche Schwächung der Zellantwort auf Isoproterenol zu finden war, so daß die Ergebnisse möglicherweise behandlungsbedingt und nicht auf eine angeborene Schwäche der Atopiker zurückzuführen sind (26). Später bestätigten sich die Ergebnisse jedoch auch an nicht vorbehandelten Atopikern. Bei Patienten mit atopischem Ekzem ließ sich ebenfalls ein verminderter c-AMP-Anstieg nach Inkubation mit Isoproterenol (10mM) in Lymphozyten feststellen.

Dieser Effekt war bei schwerem atopischem Ekzem ausgeprägter und ließ sich ebenso durch die das c-AMP normalerweise erhöhenden Substanzen Theophyllin, Adrenalin, Salbutamol und Prostaglandin E erzielen. Bei leichtem Ekzem war die Abschwächung des intrazellulären c-AMP-Anstiegs nur bei der Substanz Theophyllin signifikant (104). Da die Störung also von dem klinischen Bild und dem Schweregrad der Erkrankung abhängig zu sein scheint, halten die Autoren einen erworbenen Defekt für wahrscheinlich.

Bei menschlichen Granulozyten lassen die Ergebnisse von Busse e.a. auf eine Abschwächung der lysosomalen Enzymfreisetzung bei Atopikern schließen. Isoproterenol hemmt den Release von Beta-Glucoronidase bei Asthmatikern signifikant schwächer als bei Normalpersonen. Damit korreliert ein abgeschwächter c-AMP-Anstieg (21,22). Dabei ist noch nicht geklärt, ob die verminderte Anzahl oder die geringere Affinität der Rezeptoren für die abgeschwächte Reaktion bei Atopikern verantwortlich ist. Ergebnisse bei Patienten mit atopischem Ekzem (19) sprechen für eine Störung in der Aktivierung der Adenylzyklase: Die lysosomale Enzymfreisetzung bei Inkubation mit Adrenalin und Isoproterenol wird bei Atopikern signifikant schwächer gehemmt als bei Normalpersonen, während Prostaglandin E keinen Unterschied in der Aktivierung des c-AMP und der lysosomalen Enzymfreisetzung bei beiden Gruppen aufwies.

Andere Autoren sehen die Störung in einer zahlenmäßigen Verringerung der betaadrenergen Rezeptoren bei Atopikern begründet. Sowohl Kariman e.a. (76) als auch Brooks e.a. (15) stellten bei Asthmatikern eine reduzierte Anzahl von betaadrenergen Rezeptoren auf der Membran von Lymphozyten fest. Brooks e.a. konnten eine reziproke Beziehung der klinischen Schweregrade zur Anzahl der Rezeptoren finden.

Untersucht wurden dabei die Rezeptoren bei diesen Versuchen mit dem mit Tritium radioaktiv markierten Beta-blocker (^3H) Dihydroalprenolol. Ebenfalls damit und mit dem ebenfalls radioaktiv markiertem alphaadrenergen Antagonisten (^3H)-Dihydroergocryptin gelang es Szentivanyi (139) bei Patienten mit reversibler Atemwegsobstruktion sowie bei Patienten mit atopischem Ekzem eine Rezeptorenverschiebung von Beta- zu Alpharezeptoren auf der Zellmembran von Lymphozyten nachzuweisen. Eine Veränderung in der Zahl der B- und T-Lymphozyten gab es dabei nicht, so daß eine Verschiebung in der Relation der verschiedenen Lymphozyten als Ursache dafür ausscheidet. Die Rezeptorenverschiebung erfolgte dabei so, daß die Verringerung der einen mit dem Anstieg der anderen Sorte Rezeptoren korrelierte, eine direkte Umwandlung also wahrscheinlich ist. Dieses Phänomen ist bei anderen Zellsystemen als "receptor interconversion" bekannt. Beim Diabetes mellitus z.B. ist eine Rezeptorenverschiebung zu den betaadrenergen Rezeptoren hin bekannt, während sich bei der Atopie nach Szentivanyi ein "shift" zu den alphaadrenergen Rezeptoren hin abzeichnet. Eine vermehrte Aufnahme von Glukose durch die Blockade der betaadrenergen Inhibition der Glukoseaufnahme in extrahepatischen Zellen hält Szentivanyi dabei für einen wichtigen Faktor in der bei der Atopie vorhandenen Störung des Immunsystems (139,140).

Eine andere Position in dieser Frage nimmt die Arbeitsgruppe um Galant (42) ein: Sie konnten keine Unterschiede in der Zahl der betaadrenergen Rezeptoren oder der Bindungsaffinität zu betaadrenergen Substanzen zwischen Patienten mit leichtem oder schwerem atopischem Ekzem und Normalpersonen finden.

In diesen Versuchen wurde allerdings keine Aussage über die Vorbehandlung der Probanden gemacht. Corticosteroide z.B. normalisieren die Verhältnisse auf der Leukozytenmembran im Sinn einer Wiederherstellung der ursprünglichen Rezeptoranzahl (139).

Eine andere mögliche Ursache für die abgeschwächte Zellantwort von Blutzellen von Atopikern auf betaadrenerge Substanzen ist das Vorhandensein von Autoantikörpern gegen Betarezeptoren (40). Ähnliche Antikörper konnten anlässlich anderen Fragestellungen im Gehirn nachgewiesen werden (149).

3.2. Vermehrte cholinerge und alphaadrenerge Stimulierbarkeit

Der verminderten betaadrenergen Ansprechbarkeit entspricht bei Atopikern eine vermehrte cholinerge und alphaadrenerge Stimulierbarkeit. Bei sensibilisiertem menschlichem Lungengewebe wurden entsprechende Ergebnisse von Kaliner e.a. (s.o.) (72) vorgelegt. Die Histaminfreisetzung durch Antigen wurde durch Azetylcholin in der Konzentration 10^{-7} - 10^{-11} M (Gipfel bei 10^{-9} M) um etwa 40% gesteigert. Das c-AMP zeigte dabei keine Beziehung zur erhöhten Histaminfreisetzung. Von Haddock e.a. konnte jedoch eine signifikante Erhöhung der c-GMP in peripheren Lymphozyten von Asthmatikern nachgewiesen werden, die bei Normalpersonen deutlich schwächer ausfiel (47). In gleicher Weise lassen die Versuche von Watson e.a. einen Zusammenhang zwischen der verstärkten Erhöhung des intrazellulären c-GMP und der verstärkten Immunantwort (157) vermuten. C-AMP hatte dabei einen hemmenden Einfluß auf viele Funktionen immunkompetenter Zellen, während c-GMP diesen Effekt umkehren konnte. Klinisch entspricht einer verstärkten alphaadrenergen Stimulierbarkeit eine signifikante Dosisverringierung von Noradrenalin bei Asthmatikern im Vergleich zu Normalpersonen, um eine Halbierung der Hautdurchblutung zu erreichen (51,70).

Bei basophilen Leukozyten wurde durch Ring e.a. eine signifikant erhöhte Histaminfreisetzung durch Methylcholin bei Patienten mit schwerem atopischem Ekzem induziert, während bei Normalpersonen die Histaminfreisetzung nicht erhöht war. Methylcholin setzte dabei das Histamin ohne weiteren Histaminliberator frei (118). Von derselben Gruppe konnte an peripheren Leukozyten ein signifikant höherer Anstieg des intrazellulären c-GMP bei Atopikern nach Stimulation mit Methylcholin gefunden werden. Dem entsprach ein abgeschwächter c-AMP-Anstieg auf betaadrenerge Stimulation. Der basale c-AMP-Gehalt war bei Atopikern und Kontrollgruppe ungefähr gleich. Unter die Atopiker wurden ausschließlich Patienten mit schwerem atopischem Ekzem gezählt (Serum IgE 1560-28000) (121).

In der vorliegenden Untersuchung findet sich ebenfalls eine vermehrte Ansprechbarkeit der basophilen Leukozyten von Atopikern auf cholinerge Stimulation. Dabei ergab sich jedoch keine direkt freisetzende Wirkung, vielmehr verstärkte Carbachol die immunologische Histaminfreisetzung durch Anti-IgE. Die Größenordnung des Zuwachses an freigesetztem Histamin war jedoch wesentlich kleiner als in den Versuchen von Ring und auch von Kaliner. Insgesamt war jedoch der klinische Schweregrad der atopischen Erkrankungen im vorliegenden Probandenkollektiv im Durchschnitt sicher geringer als in den oben zitierten Arbeiten. Möglicherweise verstärkt sich die Ansprechbarkeit auf cholinerge Substanzen mit dem Schweregrad der Erkrankung, wofür auch die Ergebnisse von Schmutzler e.a. (142,143) sprechen, der an Rattenmastzellen eine vom Grad der Sensibilisierung abhängige Ansprechbarkeit auf cholinerge Substanzen postulierte.

Auch in den vorliegenden Ergebnissen zeigten einzelne Atopiker eine vom Durchschnitt erheblich abweichende Steigerung der Histaminfreisetzung, wobei jedoch ein gesicherter Zusammenhang mit dem Schweregrad der jeweiligen Erkrankung nicht herzustellen war.

3.3. Veränderte Reaktion auf Gewebshormone

Seitdem bekannt ist, daß Histamin neben dem bekannten über H_1 -Rezeptoren direkt inflammatorisch wirkenden Effekt (5,6) einen zweiten über die v.a. als Säurestimulatoren der Magenschleimhaut bekannten H_2 -Rezeptoren vermittelten antiinflammatorischen Effekt als Transmitter auf die weißen Blutzellen ausübt, sind mögliche Störungen in der Ansprechbarkeit von Leukozyten von Atopikern auf Histamin in der Diskussion (23). Histamin erhöht ähnlich wie betaadrenerge Substanzen den intrazellulären c-AMP-Gehalt in Leukozyten und wirkt dadurch hemmend auf verschiedene Zellfunktionen.

Die Histaminfreisetzung selbst ist wie bereits angeführt diesem Regulationssystem unterworfen. Bei Ragweed-positiven Patienten hatte extrazellulär zugeführtes Histamin in der Konzentration 10^{-7} - $10^{-6}M$ eine 50% Reduzierung der Histaminsekretion aus basophilen Leukozyten bewirkt (11). Durch Theophyllin, das über eine Hemmung der Phosphodiesterase ebenfalls die c-AMP-Konzentration erhöht, konnte im Unterschied zu den betaadrenergen Agonisten dieser Effekt nicht verstärkt werden.

Die hier vorliegenden Ergebnisse mit dem spezifischen H_2 -Agonisten Impromidine bestätigen die Ergebnisse von Bourne. Ein Unterschied in der Ansprechbarkeit von Atopikern im Vergleich zu Normalpersonen konnte nicht gefunden werden, eine vermehrte oder verminderte Ansprechbarkeit auf H_2 -Agonisten analog der betaadrenergen Blockade oder der vermehrten cholinergen Stimulierbarkeit scheint also bei basophilen Leukozyten nicht vorzuliegen. Ein Fehler in der Selbstregulation der Histaminfreisetzung ist daher offensichtlich nicht die Ursache für den bei Atopikern vermehrten Histaminrelease, der sich in Erhöhung der Haut-Plasmaspiegel von Histamin zeigt (67,116).

Andere Ergebnisse liegen bei neutrophilen Granulozyten vor. Busse e.a. konnten eine deutliche Abschwächung der Histaminantwort bei Atopikern im Vergleich zu Normalpersonen feststellen: Histamin ($100-0,01 \mu M$) hemmt normalerweise den Release des lysosomalen Enzyms Beta-Glucoronidase durch serum-aktivierte Zymosanpartikel. Bei Asthmatikern ist diese Reaktion deutlich abgeschwächt. Die Hemmung der Freisetzung ist mit einer Erhöhung des intrazellulären c-AMP verbunden, die ebenfalls bei Atopikern abgeschwächt ist. Vorinkubation mit Propanolol änderte an den Ergebnissen nichts, so daß ein von betaadrenergen Rezeptoren unabhängiger Defekt bei Granulozyten von Atopikern angenommen werden muß (18,20). Eine ähnliche Abschwächung der Histamin-Antwort wurde bei Patienten mit aktivem atopischem Ekzem gefunden (21). Ebenfalls bei schwerem atopischem Ekzem konnte eine durch Histamin vermittelte Abschwächung der Chemotaxis nachgewiesen werden, die stärker ausgeprägt als die ebenfalls durch Histamin auslösbare Abschwächung der Chemotaxis bei Normalpersonen (52a,110).

Hier scheint also eine vermehrte Sensibilität auf Histamin vorzuliegen.

Etwas anders scheint sich die durch Histamin erzielbare Erhöhung des intrazellulären c-AMP-Spiegels bei menschlichen Lymphozyten auszuwirken. Hier bewirkt Histamin bei Normalpersonen die Inhibition einer Proliferation einer bestimmten T-Zell-Subpopulation, der Suppressorzellen. Durch diese Inhibition kommt es zu einer Steigerung der polyklonalen Immunoglobulonantwort durch B-Zellen, die u.a. über die Suppressor-Zellen mit dem T-Zell-System verbunden sind. Suppressor-T-Zellen sind wie Plaut e.a. (108) feststellten, diejenigen Zellen im T-Zellsystem, die vorwiegend H_2 Rezeptoren tragen und deren Anzahl und Verhalten durch Immunisierung verändert wird. Histamin kann durch Reaktion mit Oberflächenrezeptoren die Aktivität dieser regulatorisch wirkenden Zellen verändern (146a). Suppressor-T-Zellen von Atopikern sind, wie Strannegard e.a. (150) zeigten, besonders empfindlich gegenüber der hemmenden Wirkung des Histamins. Demgegenüber zeigten Rola-Pleszczyski e.a. bei Normalpersonen nach Inkubation mit anderen das c-AMP steigernden Substanzen wie Isoproterenol oder Theophyllin eine Steigerung der polyklonalen Immunantwort durch selektive Hemmung der T-Suppressorzellen und einer daraus resultierenden relativen verstärkten Helferzellaktivität. Bei Atopikern war diese Reaktion deutlich abgeschwächt, eine Steigerung der Immunantwort konnte nicht erzielt werden (127). Möglicherweise liegt eine Ursache dieser Suppressorzellschwäche der Atopiker in der histamininduzierten Funktionsveränderung (148).

Neben der Störung der wahrscheinlich über ein regulatorisches System von T-Zellen vermittelten humoralen Lymphozytenfunktion sind auch Störungen der zellulären Immunantwort bei Atopikern beschrieben worden. So ist die Spontanbildung von sogenannten E-Rosetten durch c-AMP steigernde Substanzen bei Atopikern schwächer ausgebildet als bei Normalpersonen (82, 154).

Ebenso ist bei Patienten mit schwerem atopischem Ekzem die Lymphozytentransformation nach Inkubation mit Concanavalin A und Phytohämagglutinin abgeschwächt, was möglicherweise in einer Störung der Ansprechbarkeit auf c-AMP erhöhende Substanzen begründet ist (17,48,125,148,150).

Untersuchungen von Badger e.a. (4) konnten bei der PHA-Stimulation von peripheren menschlichen Lymphozyten eine durch H_2 -Antagonisten aufhebbare Hemmung durch Histamin in der Konzentration von 10^{-8} - $10^{-4} M$ feststellen, die bei Atopikern ausgeprägter war. Möglicherweise beruht dies auf der Suppression von bestimmten T-Zell-Subpopulationen (150). Insgesamt ist die Ansprechbarkeit weißer Blutzellen von Atopikern auf extrazellulär zugefügtes Histamin in vitro unterschiedlich zu der von Normalpersonen, wobei für neutrophile Granulozyten und Lymphozyten bereits gesicherte Ergebnisse vorliegen, während für die Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten hier keine Unterschiede festgestellt werden konnten.

4. Vasoaktive Mediatoren, zyklische Nukleotide und der Mechanismus der Histaminfreisetzung

Vasoaktive Substanzen entfalten ihre Wirkung am Endorgan über die Bindung an spezifischen Rezeptoren auf die Zellmembran. Die auf diese Bindung folgenden Vorgänge in der Zellmembran und im Zellinnern sind noch zum großen Teil ungeklärt. Am Beispiel der Histaminfreisetzung sollen hier einige mögliche Ansatzpunkte diskutiert werden.

Der Mechanismus der Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten und Mastzellen ist noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Sowohl bei Mastzellen wie bei Basophilen existiert eine ganze Reihe von chemisch unterschiedlichen, nicht mit einander in Beziehung stehenden Substanzen, die in der Lage sind, Histamin freizusetzen ohne zytotoxisch zu wirken (124). Im Vordergrund des Interesses stand lange Zeit die immunologische Histaminfreisetzung. Seit der Entdeckung des Immunglobulins E durch Ishizaka (59) und der Aufdeckung des Zusammenhangs dieser spezifischen Klasse von Immunglobulinen mit der Mediatorenfreisetzung (61) steht fest, daß am Anfang der Freisetzungsreaktion die Überbrückung ("Bridging") mindestens zweier auf der Zellmembran am Fc-Ende gebundenen IgE-Moleküle durch spezifisches Antigen bzw. Anti-IgE Antikörper steht (126). Während nach Untersuchungen von Lichtenstein e.a. (83) davon ausgegangen wurde, daß Anti-IgE und spezifisches Antigen sich nicht in Bezug auf die Auslösung der Freisetzungsreaktion unterscheiden, weist Marone e.a. (93) auf einige Unterschiede in der Histaminfreisetzung durch die beiden Histaminliberatoren hin: Antigen setzt Histamin über eine größere Konzentrationsbreite frei als Anti-IgE. Der Freisetzungsprozeß verläuft schneller und mit einer kürzeren Pause nach Inkubation mit Antigen. Die hemmende Wirkung von c-AMP erhöhenden Substanzen ist bei Antigen-Stimulation ausgeprägter als nach Anti-IgE-Stimulation. Eine freisetzungsfördernde Wirkung von Indomethacin schließlich fand sich nur nach Stimulation mit Antigen. Der letzten Feststellung widersprechen jedoch Untersuchungen von von der Helm e.a. (155), die eine signifikante Steigerung der Histaminfreisetzung durch Indomethacin nachweisen konnten.

Aufgrund ihrer Ergebnisse gehen Marone e.a. von zwei verschiedenen Freisetzungswegen aus, eine Meinung, die von anderen Autoren jedoch nicht übernommen wurde (54,122,123).

Durch die Überbrückung der IgE-Moleküle wird ein Ablauf von biochemischen Reaktionen eingeleitet. Ebenfalls kann diese Reaktionskette durch Antikörper gegen die IgE-Bindungsstelle induziert werden (64,79).

Gleichzeitig mit der Überbrückung der IgE-Moleküle auf der Zellmembran kommt es zu einer Aktivierung des Adenylatcyclase-Systems und der Methyltransferase (65,66). Die Aktivierung der Methyltransferase führt zu einer Methylierung der membrangebundenen Phospholipide, die den weiteren Abbau der Phospholipide über die Arachidonsäure zu den Prostaglandinen bzw. den anderen Stoffwechselweg zu den Leukotrienen ermöglicht (92). Durch diese Veränderungen auf der Plasmamembran wird der nachfolgende Calciumeinstrom in die Zelle ermöglicht, ohne den die Histaminfreisetzung nicht stattfinden kann, da Calcium als Cofaktor der verschiedenen Enzyme fungiert (54,86). Untersuchungen von Lewis e.a. lassen auf einen Zusammenhang zwischen den Veränderungen auf der Plasmamembran und den intrazellulären Spiegeln von zyklischen Nukleotiden schließen (91): Die immunologische Stimulation von Rattenmastzellen ergab einen biphasischen Anstieg sowohl von c-AMP, wie auch von c-GMP. Durch Hemmung der Prostaglandinsynthese durch Indomethacin gelang es beide c-GMP-Anstiege und den späteren c-AMP-Anstieg vollständig zu hemmen, nicht jedoch den frühen c-AMP-Anstieg. Einflüsse von Indomethacin auf die Histaminfreisetzung ergaben sich nicht. Die Schwankungen im intrazellulären Spiegel der zyklischen Nukleotide scheinen also z.T. durch den Abbau der membranständigen Phospholipide zu Prostaglandinen mit bedingt zu sein. Einen zweiphasigen Anstieg von c-AMP und c-GMP konnten ebenfalls Platshon e.a. in einem gemischten Zellsystem aus menschlicher Lunge nach immunologischer Aktivierung nachweisen.

H₂-Antagonisten hemmten dabei den c-AMP-Anstieg, während sich H₁-Antagonisten hemmend auf den c-GMP-Spiegel auswirkten. Azetylsalicylsäure hatte in diesem System keinen Einfluß auf den Gehalt an zyklischen Nukleotiden (107). Im gemischten Zellsystem mit relativ wenigen Mastzellen scheint also der Gehalt der Zellen an zyklischen Nukleotiden in erster Linie vom freigesetzten Histamin abhängig zu sein. Die Untersuchungen von Lewis an hochgereinigten Mastzellen lassen dagegen eine z.T. von der immunologischen Aktivierung folgenden Prostaglandinsynthese abhängige Veränderung im intrazellulären Spiegel der zyklischen Nukleotide direkt durch die immunologische Aktivierung der Histaminfreisetzung annehmen. Der frühe Anstieg des c-AMP scheint für die Histaminfreisetzung unerlässlich zu sein (53,54), während eine längerdauernde Erhöhung des c-AMP, wie sie für Histamin, Betaadrenergica und Prostaglandin E charakteristisch zu sein scheint, sich hemmend auf die Histaminfreisetzung auswirkt. Eine mögliche Erklärung für die widersprüchlichen Ergebnisse bezüglich c-AMP-Erhöhung und Histaminfreisetzung liegt auch im Vorhandensein von verschiedenen c-AMP-Pools (53,158), die mit der Histaminfreisetzung verbunden sind oder nicht. Möglicherweise liegt die Erklärung auch in der Aktivierung unterschiedlicher Proteinkinasen durch c-AMP, wie sie Byus e.a. (24) in Lymphozyten nachweisen konnte.

Schwieriger noch liegen die Dinge beim c-GMP. Weder der frühe noch der spätere c-GMP-Anstieg hatten nach den Untersuchungen von Lewis (91) einen Einfluß auf die Histaminfreisetzung. Die durch cholinerge Substanzen über die Erhöhung des c-GMP erreichbare Steigerung der Histaminsekretion muß daher einen von der Prostaglandinsynthese auf der Plasmamembran unabhängigen Wirkmechanismus haben. Untersuchungen von Kaliner (74) zeigen einen möglichen Ansatzpunkt in einer späteren Phase der Histaminfreisetzung auf.

Vor der Fusion der histaminhaltigen Granula mit der Zellmembran, die der Exozytose vorausgeht kommt es zu Erhöhung der Anzahl und zu einer Aggregation von Microtubuli, die für den Transport der Granula zur Zellmembran verantwortlich sind (86/99). Microtubuli liegen in der Zelle normalerweise in verschiedenen Formen der Polymerisation vor, die von nicht polymerisierten Formen (Tubulin) bis zur funktionellen Form reichen. Die Stabilität der Microtubuli variiert von Zelle zu Zelle und ist abhängig vom Funktionsstand. Microtubuli in Mitose z.B. sind sehr labil, während sich in Axonen und Dendriten ziemlich stabil polymerisierte Microtubuli finden. Colchicin und Vinblastin verschieben das Gleichgewicht zur nicht polymerisierten Seite hin. In Mastzellen sind die Microtubuli relativ stabil, durch Kälteexposition jedoch verschiebt sich das Gleichgewicht zur nicht polymerisierten Seite hin. Durch Erhöhung des c-GMP gelang es Kaliner diesen kälteinduzierten Effekt zu blockieren und die Histaminfreisetzung zu steigern, während die Erhöhung des c-AMP den depolymerisierenden Effekt von Colchicin verstärkte und die Histaminfreisetzung hemmte. Biochemisch induziert c-AMP die Phosphorylierung der Microtubuli, während c-GMP dephosphorylierende Wirkung hat (128).

Gegen eine erst in den späteren Phasen der Histaminfreisetzung wirksame Wirkung der cholinergen Stimulierung sprechen die hier vorliegenden Ergebnisse mit dem nicht-immunologisch wirksamen Histaminliberator Calcium⁺⁺-Ionophore. Es zeigte sich dabei kein Einfluß von Carbachol auf die Histaminfreisetzung, der statistisch signifikant war. Calcium⁺⁺-Ionophore, ein divalentes, fettlösliches Kation, ermöglicht den direkten Calcium⁺⁺-Einstrom in die Zelle und induziert so die Histaminfreisetzung.

Die Freisetzungsreaktion ist nicht zytotoxisch und verläuft deutlich langsamer als der immunologische Release über IgE (87). Calcium⁺⁺-Ionophore scheint die spätere Phase der Histaminsekretion direkt zu induzieren. Durch c-AMP erhöhende Substanzen wie Isoproterenol läßt sich die Histaminfreisetzung über Calcium⁺⁺-Ionophore nicht beeinflussen, wie sowohl Lichtenstein e.a. (87) als auch Pearce e.a. (106) nachweisen konnten. Demgegenüber steht eine deutliche Inhibition durch Theophyllin, das über Hemmung der Phosphodiesterase ebenfalls das intrazelluläre c-AMP erhöht (30,106). Allerdings sind dazu relativ hohe Dosen notwendig. Da es keine Hinweise dafür gibt, daß die letzte Phase der Histaminfreisetzung nämlich die Organisation und Exozytose der histaminhaltigen Granula, sich bei der immunologischen und nicht-immunologischen Histaminsekretion unterscheiden, müßten zeitlich so spät einsetzende Wirkungen den gleichen, im Fall der cholinergen Agonisten steigenden Effekt auf die Histaminfreisetzung haben. Die hier beobachtete fördernde Wirkung des Carbachols auf die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung scheint also in einer früheren Phase effektiv zu werden.

Insgesamt läßt sich der genaue Wirkungsmechanismus cholinergischer Substanzen auf die immunologische Histaminfreisetzung noch nicht angeben. Am wahrscheinlichsten scheint eine über spezifische Rezeptoren ablaufende Erhöhung des intrazellulären c-GMP zu sein, die über die Aktivierung von bestimmten Proteinkinasen die Histaminsekretion zu fördern scheint. Die hier vorliegenden Ergebnisse mit dem Azetylcholin-Antagonisten Atropin sprechen für die Einschaltung von muskarinartigen Rezeptoren auf der Zelloberfläche basophiler Leukozyten in den Freisetzungsprozeß.

Auf der anderen Seite wirkt die v.a. durch betaadrenerge Substanzen, Histamin und bestimmte Prostaglandine erzielbare Erhöhung des c-AMP-Spiegels hemmend auf die Histaminfreisetzung, möglicherweise weil der offensichtlich nötige initiale c-AMP-Anstieg, der durch Antigen-IgE-Überbrückung induziert wird, durch vorhergehende c-AMP-Stimulierung verhindert wird.

5. Vermehrte "Releasability": Ein möglicher pathogener Faktor bei atopischen Erkrankungen

Obwohl den IgE-vermittelten Freisetzungsreaktionen von vasoaktiven Mediatoren aus Mastzellen und basophilen Leukozyten mit Sicherheit eine wichtige Rolle in der Pathogenese der akut allergischen Erkrankungen zukommt, reicht die jeweilige Menge des zellgebundenen IgE, die in etwa mit der Höhe des Serum-IgE korreliert (27,79), und die Menge des zugeführten Antigens nicht aus, um die unterschiedliche Freisetzungsbereitschaft verschiedener Patientengruppen zu erklären. Nach Untersuchungen von Conroy e.a. besitzen Atopiker und Normalpersonen ungefähr gleichviel zellgebundene IgE-Moleküle an der einzelnen Basophilenmembran (zwischen 4000 - 500000 IgE-Moleküle), wobei schon wenige IgE-Moleküle ausreichen, um eine maximale Zellantwort auszulösen (27). Außerdem haben die "sensibelsten" Zellen nicht immer die höchste Konzentration an zellgebundenem IgE (28). Es müssen also noch andere, nicht IgE-vermittelte Faktoren an der erhöhten Freisetzungsbereitschaft beteiligt sein.

Im vorhergehenden wurde die Rolle von normalerweise als Neurotransmittern bekannten Substanzen auf die Histaminfreisetzung und andere Funktionen immunkompetenter Zellen diskutiert. Experimentell konnte gezeigt werden, daß cholinerge Substanzen wie Carbachol in vitro die immunologisch induzierte Histaminfreisetzung zu steigern vermögen, wenn auch der absolute Betrag der Mehrfreisetzung im Mittel nicht sehr hoch ausfiel. Die Steigerung der Histaminfreisetzung fiel bei Atopikern deutlich höher aus, wobei sich die Menge der durch Anqi-IgE erzielten Histaminsekretion bei Atopikern und Kontrollpersonen kaum unterschied.

Eine Verstärkung der Freisetzungsfreudigkeit durch eine erhöhte Aktivität des parasympathischen Nervensystems bei Atopikern scheint also zumindest denkbar, obwohl klar ist, daß von in vitro Untersuchungen nicht ohne weiteres auf in vivo Verhältnisse geschlossen werden darf. Zusammen mit der postulierten Theorie von der Schwäche der betaadrenergen Rezeptoren bei Atopikern ergibt sich hier auch ein Ansatzpunkt für die Erklärung der bekannten psychosomatischen Auffälligkeiten bei Atopikern (8,9,10,153,160,69).

Die Auswirkungen von vorwiegend als neuronale Überträgerstoffe bekannten Substanzen auf immunkompetente Zellen sind ein interessanter Teilaspekt des aufregenden, neuen Forschungsgebietes, das Schmutzler (142) als "Immunpharmakologie" charakterisiert hat. Es ist zu erwarten, daß mögliche neue Erkenntnisse über die Mechanismen des Zusammenwirkens von autonomem Nervensystem und Immunantwort auch von praktischer Bedeutung für die Diagnose und vielleicht auch die Therapie mancher heute noch weitgehend unklarer Krankheitsbilder werden.

E Zusammenfassung

In der vorliegenden Untersuchung wurde an Zellen von insgesamt 41 Atopikern und 36 Kontrollpersonen der Einfluß einer cholinergen Substanz (Carbamylcholin = CC) auf die immunologisch und nicht-immunologisch ausgelöste Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten untersucht. Als immunologische Stimuli wurden Anti-IgE sowie die häufigen Aeroallergene Gräserpollen, Hausstaubmilbe und Katzenepithel, als nicht-immunologischer Histaminliberator wurde Calcium⁺⁺-Ionophore verwendet.

CC hatte selbst keinen direkt histaminfreisetztenden Effekt in der Konzentration 10^{-8} - 10^{-3} M. In der Konzentration 10^{-4} M steigerte es die durch Anti IgE auslösbare Histaminfreisetzung in der Gruppe der Atopiker bereits ohne Vorinkubation statistisch signifikant, während nach zehnminütiger Vorinkubation in beiden Gruppen eine statistisch signifikante ($p < 0,01$) Steigerung der Histaminfreisetzung durch Anti IgE nachweisbar war. In der Gruppe der Atopiker war die Steigerung deutlich ausgeprägter als bei den Kontrollpersonen. Durch eine gleichzeitig zugefügte Menge des muskarinische Anticholinergikums Atropin in äquimolarer Konzentration, das selbst keine "intrinsic activity" besitzt, konnte die durch CC erreichbare Steigerung der Histaminfreisetzung aufgehoben werden.

Auf die durch spezifische Allergene ausgelöste Histaminfreisetzung wirkte CC beim Allergen "Katzenepithel" in der Gruppe der Atopiker verstärkend, während in den anderen Gruppen die beobachteten Effekte keine statistische Signifikanz erreichten. Die Versuche wurden jedoch nur ohne Vorinkubation durchgeführt.

Im Gegensatz zu den IgE-abhängigen Freisetzungsreaktionen war CC bei der nicht-immunologisch ausgelösten Histamin-Freisetzung durch Calcium⁺⁺-Ionophore ohne Einfluß, auch wenn eine zehnminütige Vorinkubation durchgeführt wurde.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde das Konzept eines negativen "Feedback"-Mechanismus, nach dem Histamin seine eigene Freisetzung hemmt, untersucht. Dabei wurde die Wirkung von Histamin und dem H₂-Agonisten Impromidine an Leukozyten von 25 Atopikern und 37 Kontrollpersonen im Hinblick auf die immunologische Histaminfreisetzung durch Anti IgE geprüft. Histamin hatte in der Konzentration 10 ng/dl einen deutlichen hemmenden Effekt ($p < 0,05$) in der Gruppe der Atopiker, während in den anderen aus technischen Gründen sehr niedrig gewählten Verdünnungen kein statistisch signifikanter Effekt in beiden Gruppen beobachtet werden konnte. Impromidine hatte in der Konzentration $10^{-1} - 10^{-5}$ mg/ml (entspricht $2,32 \times 10^{-7} - 10^{-10}$ M) einen deutlichen Inhibitionseffekt, der bei Atopikern und Kontrollpersonen gleich stark ausgeprägt war.

Damit konnte die Theorie von der hemmenden Wirkung von Histamin über H₂-Rezeptoren auf die Mediatorsekretion von basophilen Leukozyten bestätigt werden. Hinweise für eine veränderte Reaktivität von Atopikern gegenüber Histamin fanden sich in diesem Zusammenhang nur bedingt.

Die Untersuchungsergebnisse unterstützten die These eines möglichen Einflusses von cholinergen Überträgerstoffen auf die IgE-vermittelte Histaminfreisetzung auch am Menschen. Die erhöhte Ansprechbarkeit von Atopikern läßt Spekulationen über mögliche Ursachen der veränderten Releasability bei Atopikern zu.

F Literatur

1. Aly R, Maibach HI, Sheinfeld HR (1977) Microbial flora of atopic dermatitis. Arch. Derm. 113:780-787
2. Assem ESK, Attalah NA (1981) Increased release of histamine by anti IgE from leucocytes of asthmatic patients an possible heterogenety of IgE. Clinical Allergy 11:367
3. Assem ESK, Schild HO (1967) Inhibition by sympathomimetic amines of histamine release by antigen in passively sensitized human lung. Nature 224:1028
- 3a. Avella J, Madsen JE, Burder HJ, Askenase PW (1978) Effects of histamine H₂ receptor antagonists on delayed hypersensitivity. Lancet 1:624
4. Badger M, Young J, Poste O (1983) Inhibition of phytohaemagglutination-induced proliferation of human peripheral blood lymphocytes by histamine and histamine H₁ and H₂ agonists. Clin.exp.Immunol. 51:178
5. Beaven MA (1976) Histamine 1. New.Engl. J. Med. 294: 30
6. Beaven MA (1978) Histamine. Its role in physiological and pathological processes. Monogr. Allergy 13. Karger, Basel. pp. 31-45
7. Berrens L, Kersten W (1979) Das Atopiesyndrom. Med. Klinik 74:125
8. Borelli S, Schnyder VW (1962) Neurodermitis constitutionalis sive atopica. II. Teil: Ätiologie, Pathophysiologie, Pathogenese, Therapie. In: Miescher G, Storck H: Entzündliche Dermatosen I. (Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Suppl. Vol II/I) Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg: 254-319
9. Borelli S (1950) Untersuchungen zur Psychosomatik des Neurodermitikers. Hautarzt 1:250

11. Bourne HR, Melmon KL (1971) Histamine augments leucocyte adenosine 3'-5'-monophosphate and blocks antigenic histamine release. *Science* 173:743
12. Bourne HR, Lehrer RI, Lichtenstein LM, Weismann G, Zurier R (1973) Effects of cholera enterotoxine on adenosine 3'-5'-monophosphate and neutrophil function. Comparison with other compounds which stimulate leucocyte adenyl cyclase. *J. Clin. Invest.* 52:698
13. Bourne HR, Lichtenstein LM, Melmon KL (1972) Pharmacologic control of allergic histamine release in vitro: Evidence of an inhibitory role of 3'-5'-adenosine monophosphate in human leucocytes. *J. Immunol.* 108:695
14. Bourne HR, Lichtenstein LM, Melmon KL, Henney CS, Weinstein Y, Shearer GM (1974) Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. Receptors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leucocyte functions. *Science* 184:19
15. Brooks SM, Mc Gowan K, Bernstein IL, Altenau P, Peagler J (1979) Relationship between numbers of beta adrenergic receptors in lymphocytes and disease severity in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 63:401
16. Brooks Ch (1983) Newer concepts of the autonomic system's role derived from reductionist and behavioral studies of various animal species. *J. Autonomic Nervous System* 7:199
17. Brostoff J, Pack S, Lydyard PM (1980) Histamine suppression of lymphocyte activation. *Clin.exp.Immunol.* 39:739
18. Busse WW, Sosman J (1976) Neutrophil lysosomal enzyme release: An H_2 histamine receptor response. *Science* 194:737
19. Busse WW, Lee IP (1976) Decreased adrenergic responses in lymphocytes and granulocytes in atopic eczema. *J. Allergy Clin. Immunol.* 58:586

20. Busse WW, Sosman J (1977) Decreased H_2 response of granulocytes of asthmatic patients. *J. Clin. Invest.* 59:1080
21. Busse WW, Lantis SDH (1979) Impaired H_2 histamine granulocyte response in active atopic eczema. *J. Invest. Dermatol.* 73:184
22. Busse WW, Anderson CL, Dick EC, Warshauer D (1980) Reduced granulocyte response to isoproterenol, histamine and prostaglandin E_1 after in vitro incubation with rhinovirus 16¹⁻⁴. *American Review of Respiratory Disease* 122:641
23. Busse WW (1979) Histamine: Mediator and modulator in inflammation. In: Houck JC (ed) *Chemical messengers of the inflammatory process*. Elsevier, Amsterdam pp 1-46
24. Byus CV, Klimpel GR, Lucas DD, Russel DH (1977) Type I and type II c-AMP dependent protein kinases as opposite effectors of lymphocyte mitogenesis. *Nature* 268:63
25. Coca AF, Cooke RA (1923) On the classification of the phenomena of hypersensitiveness. *J. Immunol.* 8:163
26. Conolly ME, Greenacre JK (1976) The lymphocyte beta-adrenoreceptor in normal subjects and patients with bronchial asthma. *Clin. Invest.* 58:1307
27. Conroy MC, Adkinson NF, Lichtenstein LM (1977) Measurement of IgE on human basophils: Relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release. *J. Immunol.* 118:1317
28. Conroy MC (1981) Releasability - a new dimension in basophil and mast cell reactivity. In: Ring J, Burg C: *New Trends in Allergy*. Springer. Berlin, Heidelberg 1981 pp 40-45
29. De Weck AL (1980) Allergische Reaktionen vom Soforttyp: Wechselwirkungen zwischen Mediatoren und Zellen. *Schweiz. Med. Wschr.* 110:175

30. Diamant B, Pathar SA (1975) Stimulation and inhibition of histamine release from isolated rat mast cells. Dual effects of the ionophore A 23187. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 49:183
31. Dulis BH, Gordon MA, Wilson JB (1979) Identification of muscarinic binding sites in human neutrophils by direct binding. *Mol. Pharmacol.* 15:28
32. Durant GJ, Ganellin CR, Parsons ME (1975) Chemical differentiation of histamine H_1 and H_2 receptor-agonists. *J. Med. Chem.* 18:905
33. Durant GJ, Duncan WAM, Ganellin CR, Parsons ME, Blakemore RC, Rasmussen AC (1978) Impromidine (Sk&F 92676) is a very potent and specific agonist for histamine H_2 receptors. *Nature* 276:403
34. Fantozzi R, Moroni F, Masini E, Blandina P, Mannaioni PF (1978) Modulation of the spontaneous histamine release by adrenergic and cholinergic drugs. *Agents and Actions* 8:347
35. Fantozzi R, Masini E, Blandina P, Mannaioni PF (1979) Cholinergic histamine release: Evidence of muscarinic receptors in rat mast cells. *Agents and Actions* 9:234
36. Fantozzi R, Masini E, Blandina P, Mannaioni PF, Bani-Sacchi T (1978) Release of histamine from rat mast cells by acetylcholine. *Nature* 273:473
37. Fantozzi R, Masini E, Blandina P, Brunelleschi S, Mannaioni PF (1983) Receptor modulation of histamine release in isolated purified rat mast cells. *Monoqr. Allergy* 18:190
38. Findlay SR, Lichtenstein LM (1978) Basophil "releasability" in patients with intrinsic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 61:157
39. Foreman JC, Monqar JL, Gomperts BD, Garland LG (1975) A possible role for cyclic AMP in the regulation of histamine secretion and the action of cromoglycate. *Biochem. Pharmacol.* 24:538

40. Fraser CM, Harrison LC, Craig Venter J (1977) Autoantibodies to betaadrenergic receptors in one allergic rhinitis and two asthma patients. Abstr. J. Allergy Clin. Immunol. 60:
41. Galant SP, Lundak RC, Eaton L (1976) Enhancement of early human E rosette formation by cholinergic stimuli. J. Immunol. 117:48
42. Galant SP, Underwood S, Allred S, Hanifin JM (1979) Betaadrenergic receptor binding on polymorphonuclear leucocytes in atopic dermatitis. J. Invest. Dermatol. 72:330
43. Gillespie E, Valentine MD, Lichtenstein LM (1974) Cyclic AMP metabolism in asthma. Studies with leucocytes and lymphocytes. J. Allergy Clin. Immunol. 53:27
44. Gleich IG, Müller SA (1980) Atopic dermatitis. A review with emphasis on pathogenesis. In: Parker CW (ed) Clinical Immunology Vol II. Saunders. Philadelphia, London, Toronto. Pp. 1316-1335
45. Goldberg ND, Haddox MK, Estensen R, Lopez C, Hadden JW (1974) Evidence for a dualism between cyclic GMP and cyclic AMP in regulation of cell proliferation and other cellular processes. In: Lichtenstein LM, Parker C (ed.): Cyclic APM in Immune Response and Tumor Growth, Springer. New York
46. Grove DJ, Reid JG, Forbes JJ (1975) Humoral and cellular immunity in atopic dermatitis. Br. J. Dermatol. 92:116
47. Haddock AM, Patch KR, Alston WC, Kerr JW (1975) Response of lymphocyte guanyl cyclase to propanolol, noradrenaline, thymoxamine and acetylcholine in extrinsic bronchial asthma. Br. Med. J. 1975/II: 357
48. Hanifin JM, Lobitz WC (1977) Newer concepts of atopic dermatitis. Arch. Dermatol. 113:663

49. Hanifin JM, Roqge JL (1977) Staphylococcal infections in patients with atopic dermatitis. Arch. Dermatol. 113:1383
50. Hemels HGWM (1970) The Effect of propranolol on the acetylcholine induced sweat gland response in atopic and non atopic subjects. Br. J. Dermatol. 83: 312
51. Henderson WR, Smith L, Kaliner M (1978) Alpha adrenergic responses in asthma. Clin. Research 26:447 A
52. Henney CS, Bourne HR, Lichtenstein LM (1972) The role of cyclic 3'-5' adenosine monophosphate in the specific cytotoxic activity of lymphocytes. J. Immunol. 108:1526
- 52a Hill HR, Quie PG (1974) Raised serum IgE levels and defective neutrophil chemotaxis in three children with eczema and recurrent bacterial infections. Lancet 1:183
53. Holgate ST, Lewis RA, Maquire JF, Jackson Roberts L, Oates JA, Austen KF (1980) Effects of prostaglandin D₂ on rat serosal mast cells: discordance between immunologic mediator release and cyclic AMP levels. J. Immunol. 125:1367
54. Holgate ST, Lewis RA, Austen KF (1981) Mastcell activation and secretion. In: Ring J, Burq G: New Trends in Allergy. Springer. Berlin, Heidelberg 1981
55. Huber RM, Häußinger K, Held E (1985) Asthma bronchiale. Diagnose, Differentialdiagnose und Pathophysiologie. MMW 127:489
56. Ignarro LJ, Columbo C (1973) Enzyme release from polymorphonuclear leucocyte lysosomes. Regulation by autonomic drugs and cyclic nucleotides. Science 180:1181
57. Ignarro LJ, Paddock RJ, George WJ (1974) Hormonal control of neutrophil lysosomal enzyme release: Effect of epinephrine on adenosine 3'-5' monophosphate. Science 183:855

58. Iliano G, Tell GPE, Siegel M, Cuatrecasas P. (1973) Proc. Natl. Acad.Sci. 70:2443
59. Ishizaka K, Ishizaka T (1967) Identification of IgE antibodies as a carrier of reaginic activity. J. Immunol 99:1187
60. Ishizaka K, Ishizaka T (1968) Human reaginic antibodies and immunoglobulin E.J. Allergy 42:300
61. Ishizaka T, Ishizaka K, Johnsson SGO, Bennich H (1969) Histamine release from human leucocyte by anti IgE antibodies. J.Immunol 102:884
62. Ishizaka T, Soto CS, Ishizaka K (1973) Mechanismus of passive sensitisation. J. Immunol. 111:500
63. Ishizaka T (1975) Mechanisms for sensitisation of human basophil granulocytes. Int. Archs. Allergy appl. Immunol. 49:129
64. Ishizaka T, Chauq TH, Taggart M, Ishizaka K (1977) Histamine release from rat mast cells by antibodies against rat basophilic leukaemia cell membrane. J. Immunol. 119:1589
65. Ishizaka T, Hirate E, Sterk AR, Ishizaka K, Axelrod J (1981) Bridging of IgE receptors activates phospholipid methylation and adenylate cyclase in mast cell plasma membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. 78:6812
66. Ishizaka T, Corrad DH (1983) Binding characteristics of human IgE receptors and initial triggering events in human mast cells for histamine release. Monograph. Allergy 18:14
67. Johnson HH, De Oreo GA, Lascheid WP, Mitchell F (1960) Skin histamine levels in chronic atopic dermatitis. J. Invest. Dermatol. 34:357
68. Johnson AR, Moran NC (1970) Inhibition of the release of histamine from rat mast cells: The effect of cold and adrenergic drugs on release of histamine by compound 48/80 and antigen. J. Pharmacol. 175:632

69. Jordan JM, Whitlock FA (1972) Emotion and the skin. The conditioning of scratch responses in cases of atopic dermatitis. *Br.J. Derm.* 86:574
70. Juhlin L (1961) Skin reaction to iontophoretically administered epinephrine and norepinephrine in atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 37:201
71. Kaliner M, Austen KF (1974) Cyclic AMP, ATP, and reversed anaphylactic histamine release from rat mast cells. *J. Immunol.* 112:664
72. Kaliner M, Orange RP, Austen KF (1972) Immunological release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. IV. Enhancement by cholinergic and alphaadrenergic stimulation. *J. Exp. Med.* 136:556
73. Kaliner M, Austen KF (1973) A sequence of biochemical events in the antigen-induced release of chemical mediators from sensitized human lung tissue. *J. Exp. Med.* 138:1077
74. Kaliner M (1977) Human lung tissue and anaphylaxis. Evidence that cyclic nucleotides modulate the immunologic release of mediators through effects on microtubular assembly. *J. Clin. Invest.* 60:951
75. Kaliner M (1977) Human lung tissue and anaphylaxis. I. The role of cyclic GMP as a modulator of the immunologically induced secretory process. *J. Allergy Clin. Immunol.* 60:204
76. Kariman K, Lefkowitz RJ (1977) Decreased beta adrenergic receptor binding in lymphocytes from patients with bronchial asthma. *Clin. Res.* 25:503A
77. Katz P, Fauci AS (1978) Activation of human B lymphocytes. VII. The regulatory effect of cyclic adenosine monophosphate on human B cell activation. *J. Allergy Clin. Immunol.* 61:334

78. Kiernan JA (1972) Effects of known and suspected neurotransmitter substances and of some nucleotides on isolated mast cells. *Experientia* 28:653
79. König W, Theobald K, Möller G, Pfeiffer P Bohn A (1981) The IgE receptor. In: Ring J, Burg G: *New trends in allergy*. Springer. Berlin, Heidelberg
80. Leder LD (1981) The mast cell: Morphology and ontogeny. In: Ring J, Burg G: *New trends in allergy*. Springer. Berlin, Heidelberg pp.2-8
81. Leyden JJ, Marples RR, Kligman AM (1974) *Staphylococcus aureus* in the lesions of atopic dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 90:525
82. Lang MD, Geol Z, Grieco M (1978) Subsensitivity of T - lymphocytes to sympathomimetic and cholinergic stimulation in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 61:248
83. Lichtenstein LM, De Bernardo R (1971) The immediate allergic response: In vitro action of cyclic AMP active and other drugs on the two stages of histamine release. *J. Immunol.* 107:1137
84. Lichtenstein LM, Henney CS, Bourne HR, Greenough WR (1973) Effects of Cholera Toxin on in vitro models of immediate and delayed hypersensitivity. Further evidence for the role of cyclic adenosine 3'-5'-monophosphate. *J. Clin. Invest.* 52:691
85. Lichtenstein LM, Gillespie E (1975) The effects of the H₁ and H₂ antihistamines on "allergic" histamine release and its inhibition by histamine. *J. Pharmacol.exp.Ther.* 192:441
86. Lichtenstein LM (1975) Sequential analysis of allergic response. Cyclic AMP, Calcium and histamine. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 49:143

87. Lichtenstein LM (1975) The mechanism of basophil histamine release induced by antigen and by the calcium ionophore A 23187. *J. Immunol.* 114:1692
88. Lichtenstein LM, Schlenner RR, Peter SP, Kagey-Sobotka A, Adkinson AF, Adams GK, Schulmann ES, Mc Glashan DW. (1983) Monograph. *Allergy* 18:259
89. Lobitz WS, Campbell CJ (1953) Physiologic studies in atopic dermatitis (disseminated neurodermatitis). I. The local cutaneous response to intradermally injected acetylcholine and epinephrine. *Arch. Derm.* 67:575
90. Lubach D (1982) Zur Pathogenese der Neurodermitis atopica. *Allergologie* 5,2 (1982):42
91. Maquire JF, Lewis RA, Holgate ST, Jackson Roberts L, Oates JA, Austen KF (1979) Effects of indomethacin on cyclic nucleotide levels and histamine release from rat serosal mast cells. *J. Immunol.* 123:1663
92. Marone G, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM (1979) Effects of arachadonic acid and its metabolites on antigen induced histamine release from human basophils in vitro. *J. Immunol.* 123:1669
93. Marone G, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM (1981) IgE mediated histamine release from human basophils. Differences between antigen E- and anti IgE-induced secretion. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 65:339
94. Marone G, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM (1981) Control mechanism of histamine release from human basophils in vitro: The role of phospholipase A₂ and of lipoxygenase metabolites. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 66 Suppl. 1:144

95. Moroni F, Fantozzi R, Masini E, Mannaioni PF (1977) The modulation of histamine release by alpha-adreno-receptors: Evidences in murine neoplastic mast cells. *Agents and Actions* 7:57
96. Minocherhomjee AM, Roufogalis BD (1982) Mechanisms of coupling of the betaadrenergic receptor to adeny-latecyclase - an overview. *Gen. Pharmacol.* 13:87
97. Mittal CK, Murad F (1982) Guanylate cyclase. Requ-lation of cyclic GMP metabolism. In: *Cyclic Nucleo-tides, part I: Biochemistry. Handbook of experimen-tal pharmacology Vol. 58/I.* Springer. Heidelberg, New York. 1982. pp 225-251
98. Neubert U, Wolff HH (1982) Komplikationen bei ato-pischem Ekzem. *Allergologie* 5,2:52
99. Oliver JM, Zurier RB (1976) Correction of characte-ristic abnormalities of microtubuli function and granular morphology in Chediak-Higashi syndrome with cholinergic agonists. *J. Clin. Invest.* 57:1239
100. Orange RP, Kaliner MA, Lanza PJ, Austen KF (1971) Immunological release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. II. In-fluence of cellular levels of cyclic AMP. *Fed. Pro.* 30:1725
101. Orange RP, Austen WG, Austen KF (1971) Immunologi-cal release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. I. Modulation by agents influencing cellular levels of cyclic 3'-5' adenosine monophosphate. *J. Exp. Med.* 134:136
102. Parker CD, Bilbo RE, Reed CE (1965) Metacholine aero-sol as test for bronchial asthma. *Arch. Intern. Med.* 115:432
103. Parker CW, Smith JW (1973) Alteration in cyclic ade-nosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma. I. Leucocyte responsiveness to betaadrenergic agents. *J. Clin. Invest.* 52:48

104. Parker CW, Kennedy S, Eisen AZ (1977) Leucocyte and lymphocyte cyclic AMP response in atopic eczema. *J. Invest. Dermatol.* 68:302
106. Pearce FL, Blum U, Poblete-Freundt G, Schmutzler W (1978) Studies on the release of histamine from isolated guinea pig mast cells stimulated by ionophore A 23187 or by the anaphylactic reaction. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 302:165
107. Platshon CF, Kaliner M (1978) The effects of immunologic release of histamine upon human lung, cyclic nucleotide levels and prostaglandin generation. *J. Clin. Invest.* 62:1113
108. Plaut M, Lichtenstein LM, Henney CS (1975) Properties of a subpopulation of T cells bearing histamine receptors. *J. Clin. Invest.* 55:856
109. Poblete-Freundt G, Rauch W, Schönfeldt W, Schmutzler W (1978) Effects of cholinergic stimulation on isolated mast cells from rat, guinea pig and man. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* (Suppl. R 47) 302:186
110. Radermecker M, Maldaque MP (1981) Depression of neutrophil chemotaxis in atopic individuals. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 65:144
111. Rajka G (1975) Atopic dermatitis. Saunders. London, Philadelphia, Toronto, 1975
112. Ring J (1978) Zyklisches Adenosin-3'-5'-Monophosphat (c-AMP) und Allergie. *Der Hautarzt* 29:625
113. Ring J (1978) RIST, PRIST, RAST und so weiter. Zur Serodiagnostik der allergischen Sofortreaktion. *Dtsch.med. Wschr.* 103:365
114. Ring J, Simon A, Arroyave CM (1978) Increased in vitro histamine release by radiographic contrast media in patients with history of incompatibility. *Clin. Exp. Immunol.* 34:
115. Ring J, Senter T, Arroyave M, Cornell R, Tan EM Role of complement and histamine in atopic dermatitis. *Abstr. Clin. Res.* 26:210A

116. Ring J, Senter T, Cornell RC, Arroyave CM, Tan EM (1979) Plasma complement and histamine changes in atopic dermatitis. *Br.J. Dermatol.* 100:521
117. Ring J (1979) Atopic dermatitis (1979) A disease of general vasoactive mediator dysregulation. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 59:233
118. Ring J, O'Connor R (1979) In vitro histamine and serotonin release studies in atopic dermatitis. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 58:322
119. Ring J. (1981) Atopic dermatitis: A disease of immunovegetative (autonomic) dysregulation. In: Ring J, Burq G: *New Trends in Allergy*. Springer. Berlin, Heidelberg 1981.
120. Ring J (1981) Increased vasoactive mediator releasability: A possible pathogenetic factor of atopic dermatitis. *Int. Archs. Allergy appl. Immunology* 66 (Suppl.I):156
121. Ring J, Mathison DA, O'Connor R. (1981) In vitro cyclic nucleotide responsivity of peripheral leukocytes and platelets in patient suffering from atopic dermatitis. *Int. Archs. Allergy appl. Immunol.* 65:1
122. Ring J (1981) Atopische Dermatitis: Versuch einer Synopse immunologischer Phänomene. *RAST 2 Berichtsband*: 28
123. Ring J (1982) *Angewandte Allergologie*, MMV-Medienverlag, München
124. Ring J. (1984) Reaktionsbereitschaft (Releasability). Veränderte Reaktionsmuster in der Freisetzung vasoaktiver Mediatoren. *Allergologie* 7:41
125. Roqque JL, Hanifin JM (1976) Immundeficiencies in severe atopic dermatitis. Depressed chemotaxis and lymphocyte transformation. *Arch. Derm.* 112:1391

126. Roitt I (1980) Essential Immunology. (4. Edition). Blackwell. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Melbourne
128. Sandoval JV, Cuatrecasas P (1976) Opposing effects of c-AMP and c-GMP on protein phosphorylation in tubulin preparation. *Nat. New Biol.* 262:511
129. Shore PA, Burkhalter A, Cohn VH (1959) A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127:182
130. Siraganian RR, Hock WA (1977) Mechanism of histamine release by formyl methionine containing peptides. *J. Immunol.* 119:2070
131. Siraganian RP, Hock WA (1976) Complement-induced histamine release from human basophils. II. Mechanism of the histamine release reaction. *J. Immunol.* 116:639
132. Siraganian RP, Brodsky MJ (1976) Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. I. A method utilizing allergen induced histamine release from whole blood. *J. Allergy Clin. Immunol.* 57:325
133. Sönnichsen K (1982) Atopisches Ekzem. Theorien zur Pathogenese. *Dt. Dermatol.* 30,10:1035
134. Sullivan TJ, Parker KL, Eisen SA, Parker CW (1975) Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. Studies on the relationship between intracellular cyclic AMP concentration and histamine release. *J. Immunol.* 114:1480
135. Sullivan TJ, Parker KL, Stenson W, Parker CW (1975) Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. Response to pharmacologic, metabolic and physical stimuli. *J. Immunol.* 114:1473

136. Sutherland EW, Rall TW (1957) Properties of an adenosine ribonucleotide produced with cellular particles, adenosine triphosphate, magnesium and adrenergic or glucagon. *J. Am.Chem.Soc.* 79:3608
137. Sutherland EW, Rall TW (1957) Fractionation and characterization of a cyclic adenosine ribonucleotide formed by tissue particles. *J. Biol. Chem.* 232:1077
138. Szentivanyi (1968) The beta adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma. *J. Allergy* 42:203
139. Szentivanyi (1980) The radioligand binding approach in the study of lymphocytic adrenoceptors and the constitutional basis of atopy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 65:5
140. Szentivanyi A. William JF (1980) The constitutional basis of atopic disease. In: Riernan CW, Pealman DS (eds): Allergic diseases of infancy, childhood and adolescence. Saunders. Philadelphia
141. Schild HO (1936) Histamine release and anaphylactic shock in isolated lungs of guinea pigs. *Quart. J. Exp. Physiol.* 20:165
142. Schmutzler W. (1978) Pharmacological aspects of immune reactions. *Allergol. et Immunopathol.* Vol. VI.:345
143. Schmutzler W, Poblete-Freundt G, Rauch K, Schoenfeld W (1979) Response to immunological or cholinergic stimulation of isolated mast cells from man, guinea pig, and rat. Monograph. *Allergy* 14:288
144. Schmutzler W, Glück St, Huber M, Fischer B, Pult P (1983) Is cholinergic histamine release a mechanism of allergy or pseudo-allergy? Monograph. *Allergy* 18:186

145. Schnyder WW, Borelli S (1962) Neurodermatitis constitutionalis sive atopica. 1. Teil: Nomenklatur. Klinische Symptomatologie. In: Jadasohn J (Hrsg.): Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Ergänzungswerk II/1. Springer. Berlin, Göttingen, Heidelberg. S. 228 ff
146. Schreiner GF, Unanue ER (1975) The modulation of spontaneous and anti IqE stimulated motility of lymphocytes by cyclic nucleotides and adrenergic and cholinergic agents. J. Immunol. 114:802
- 146a. Schwartz A, Sutton SL, Askenase PW, Gershon RK (1981) Histamine Inhibition of Concanavalin A induced suppressor T-cell activation. Cell Immunol. 60:426
147. Stahl-Skov P, Geisler A, Klysner R, Nory S (1977) Allergic reaction, cyclic AMP and histamine release. Experientia 33:905
148. Stingl G, Hintner H (1983) Zellvermittelte Immunität bei atopischer Dermatitis. Der Hautarzt 34:107
149. Stracker CD, Pickel VM, Joh TH, Strohsacker MW, Shorr RGL, Lefkowitz RJ, Caron MG (1983) Antibodies to the betaadrenergic receptor: Attenuation of catecholamine-sensitive adenylate cyclase and demonstration of postsynaptic receptor localization in brain. Proc.Natl. Acad. Sci. 80:1840
150. Stannegard CL, Lindholm L, Strannegard Ö (1977) Increased sensitivity of lymphocytes from atopic individuals to histamine induced suppression. Scand. J. Immunol. 6:1225
151. Strom TB, Cane MA, George K (1981) The parallel, time dependent, bimodal change in lymphocyte cholinergic binding activity and cholinergic influence upon lymphocyte-mediated cytotoxicity after lymphocyte activation. J. Immunol. 127:705

152. Tauber AI, Kaliner M, Stechschulte DJ, Austen KF (1973) Immunologic release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. *J. Immunol.* 111:27
153. Ullmann KC, Moore RW, Reidy M (1977) Atopic eczema. A clinical psychiatric study. *J. Asthma Res.* 14:91
154. Verhaegen H, De Cock W, De Cree J, (1977) Histamine receptor bearing peripheral T lymphocytes in patients with allergies. *J. Allergy Clin. Immunol.* 59:266
155. von der Helm D, Ring J, Dorsch W (1983) Influence of prostaglandine E_2 and indomethacin on histamine releasability of peripheral leucocytes from atopic and normal individuals. *Arch. Derm. Res.* 275:218
156. Warnsdorff JA (1970) The response of sweatglands to acetylcholine in atopic subjects. *Br. J. Dermatol.* 83:306
157. Watson J, Epstein R, Colin M (1973) Cyclic nucleotides as intracellular mediators of the expression of antigen-sensitive cells. *Nature* 246:405
158. Wechner HJ, Bloom F, Parker CW (1972) Compartmentalization of cyclic AMP in human leucocytes. *Clin. Res.* 20:790
159. Whitfield A (1938) On the white reaction (white line) in dermatology. *Br.J. Dermatol.* 50:71
160. Whitlock FA (1976) Psychophysiological aspects of skin disease. Saunders. London, Philadelphia, Toronto
161. Wiesner-Menz L, Schulz B, Vakilzadeh F, Czarnetzki BM (1981) Electron microscopical evidence for a direct contact between nerve fibres and mast cells. *Acta Dermatovenereol.* 61:465
162. Wüthrich B (1975) Zur Immunpathologie der Neurodermatitis constitutionalis. Eine klinisch-immunologische Studie mit besonderer Berücksichtigung der Immunglobuline E und der spezifischen Reagine im zeitlichen Verlauf. Huber. Bern, Stuttgart, Wien.

- *155 a. Von der Helm D (1984) Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten und Prostaglandinstoffwechsel, MED.Diss., München

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Arbeitsmöglichkeit in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. J. Ring für die freundliche Beratung und für fruchtbare Anregungen bei der Auswertung.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Sedlmeir für wertvolle Hinweise während der Durchführung der Versuche und zahlreicher Anregungen bei der Planung der Versuchsreihen.

Lebenslauf

1953 geboren in Mindelheim als Sohn des Arztes
Dr. Hanns Ibel und seiner Ehefrau Rosemarie

1960 Beginn der Volksschule in Bad Wörishofen

1964 Übertritt ins humanistische Gymnasium

1973 Abitur am Staatlichen Gymnasium Kaufbeuren

1973 Aufnahme des Studiums der Geschichte und
Germanistik in München (LMU)

1976 Ableistung des Zivildienstes

1978 Beginn des Medizinstudiums in München (LMU)

Frühj.80 Ärztliche Vorprüfung

Frühj.81 1. Ärztliche Prüfung

Frühj.83 2. Ärztliche Prüfung

Frühj.84 3. Ärztliche Prüfung

3.7.1984 Approbation als Arzt

7.1.1985 Beginn der Ausbildung in der Fachrichtung
Innere Medizin an der Herz-Kreislaufklinik
der LVA Schwaben, Bad Wörishofen
(Chefarzt PD Dr. E. Volger)

